

Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta
Katedra biologie

Fluorescence chlorofylu jako indikátor stresu u rostlin

Bakalářská práce

Autor: Kamila Dubenecká
Studijní program: B1501 Biologie
Studijní obor: Systematická biologie a ekologie
Vedoucí práce: doc. Ing. Jiří Tůma, CSc.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, z kterých jsem vycházela

V Hradci Králové dne

Kamila Dubenecká

Poděkování

Děkuji za rady a trpělivost při vedení mé bakalářské práce doc. Ing. Jiřímu Tůmovi, CSc. z katedry biologie na PŘF Univerzity Hradec Králové a Mgr. Ivaně Šafránkové, Ph.D. Za instruktáž a dohled při provádění experimentální práce děkuji prof. dr hab. Władysławu Polcynovi a MSc Ewelinie Paluch z Univerzity A. Mickiewicze v Polsku.

Anotace

DUBENECKÁ, K. *Fluorescence chlorofylu jako indikátor stresu u rostlin*. Hradec Králové, 2015. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce Jiří Tůma. 46 s.

Bakalářská práce shrnuje poznatky o fluorescenci chlorofylu a zaměřuje se především na zkoumání rostlinného stresu způsobeného abiotickými faktory. Součástí práce je praktická část, kde bylo provedeno měření změn fluorescence chlorofylu na dvou odrůdách pšenice seté (*Triticum aestivum*) stresované zasolením a vysokou intenzitou světla. Práce porovnává vliv těchto stresorů na jednotlivé odrůdy pomocí dvou parametrů fluorescence - Rfd a Fv/Fm.

Klíčová slova:

Stres rostlin, zasolení, intenzita světla, fluorescence chlorofylu, *Triticum aestivum*

Annotation

DUBENECKÁ, K. *Chlorophyll fluorescence as a stress indicator by plants*. Hradec Králové, 2015. Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor Tůma Jiří. 46p.

The bachelor's thesis summarizes knowledge about chlorophyll fluorescence and focuses on the research of plant stress caused by abiotic factors. Part of this thesis is a practical part, where were taken measurements of changes of chlorophyll fluorescence on two breeds of the spring wheat (*Triticum aestivum*) stressed by salinity and by high intensity of light. The thesis compares effect of these stressors on both breeds with two parameters of fluorescence - Rfd and Fv/Fm.

Keywords

Plant stress, salinity, intensity of light, chlorophyll fluorescence, *Triticum aestivum*

Obsah

Úvod	1
Teoretická část	
1 Indukovaná fluorescence chlorofylu	3
1.1 Elektronový transportní řetězec v chloroplastech	7
1.2 Průběh měření a parametry fluorescence chlorofylu.....	9
1.3 Fluorescenční kinetika.....	13
Praktická část	
2 Metodika práce	15
3 Výsledky	
3.1 Odrůda Seance - kontrolní varianta	17
3.2 Odrůda Seance - stresovaná varianta	19
3.3 Odrůda Seance - porovnání kontrolní a kontaminované varianty.....	21
3.4 Odrůda Granny - kontrolní varianta	23
3.5 Odrůda Granny - stresovaná varianta	25
3.6 Odrůda Granny - porovnání kontrolní a kontaminované varianty.....	27
3.7 Porovnání odrůd Seance a Granny	28
4 Diskuze.....	32
Závěr	35
Seznam použité literatury.....	36
Příloha.....	40

Seznam zkratk

FIK	- fluorescenční indukční křivka
ATP	- adenosintrifosfát
LHCs	- světlo-sběrné komplexy
PS II	- fotosystém II
PS I	- fotosystém I
P680	- pigment P680 (chlorofyl a)
P700	- pigment P700 (chlorofyl a)
NADPH	- nikotinamidadeninukleotidfosfát
UV	- ultrafialové
ETR	- relativní elektronový transport
NPQ	- nefotochemické zhášení
$Y_F, \Phi F$	- kvantový výtěžek fluorescence chlorofylu
MR	- měřící světlo
AR	- aktinické světlo
SP	- saturační pulz

Přehled parametrů fluorescence na str. 12

Úvod

Rostliny oproti živočichům mají nevýhodu v sesilném způsobu života, tím pádem nemohou před působením stresu uniknout na jiné místo. V biologii rostlin se stres definuje jako stav organismu vyvolaný nepříznivými faktory prostředí (stresory), které přesáhly druhově specifickou optimální hodnotu a inhibují obvyklé funkce rostliny (Jones et Jones, 1989, Bláha et al., 2003).

I když se rostlina nemůže přesunout na jiné místo, má možnost, jak se s působením stresu vypořádat. U rostlin se vyvinuly různé molekulární mechanismy pro překonání odlišných stresových faktorů (angl. stress tolerance) nebo byly u některých druhů vytvořeny i určité morfologické a anatomické struktury, které dovolují se působení stresu vyhnout (angl. stress avoidance) - např. sukulenty zadržují vodu ve stoncích nebo v listech, a tím lépe odolávají dlouhodobému suchu. Mechanismy tolerance vůči stresu mají velkou druhovou variabilitu, díky tomu druhy s určitými obrannými mechanismy mohou přežít v podmínkách, ve kterých by jiné rostliny zemřely.

Po fyziologické stránce může stres způsobovat metabolickou toxicitu, snížení příjmu vody, změny v transpiračním proudu, inhibici fotosyntézy, snížení příjmu a zabudování dusíku aj. Stresovou reakcí (odpovědí na působení stresu) z molekulárního hlediska může být snížená aktivita enzymů i syntéza proteinů, změny v expresi genů, rozklad makromolekul a dezintegrace membránového systému. Většina stresových faktorů vyvolává určité společné účinky, ačkoliv každý stresový faktor zvláště způsobuje specifické efekty. Abiotické stresory ovlivňují membránový systém buňky, který zajišťuje mnoho životně důležitých procesů, mimo jiné: elektronový transport, příjem signálů, produkce ATP a iontový transport (Madhava Rao, 2006).

Porozumění působení stresu je důležité především kvůli ztrátám v zemědělské produkci (Golladack et al., 2014). Jenks et Hasegawa (2005) uvádí odhad, že 51 - 82% potenciálního výtěžku jednoletých plodin je ztraceno působením abiotických faktorů. S působením stresu na zemědělské plodiny souvisí rostoucí problém zasolení půd způsobený především umělým zavlažováním. Nejčastěji je zasolení způsobováno zvýšenou koncentrací iontů Na^+ a Cl^- , které výrazně inhibují růst rostlin a snižují efektivitu fotosyntézy (Deinlein et al., 2014). Téměř miliarda hektarů, tedy zhruba 7% světové výměry půd je ovlivněno zasolením. Jedna a půl miliardy hektarů veškeré plochy půd je využíváno pro zemědělství a kolem 5 % z tohoto množství (77 milionů ha) je ovlivněno salinitou (Tester et Davenport, 2003). Plocha zasolených půd se do budoucna bude navíc stále zvyšovat, čímž se celosvětově sníží produkce plodin. S neustále rostoucí lidskou populací se omezená možnost produkce stává velmi vážným problémem. Právě proto se mnoho výzkumů věnuje vlivu zasolení, sucha a jiných faktorů, které úrodu velmi markantně snižují. Zároveň vědci usilují o vytvoření rostlin více odolných vůči těmto stresorům.

Jednou z metod, jak lze působení stresu rozpoznat, je měření fluorescence chlorofylu. Tato metoda je založena na změnách výtěžku fluorescence v čase. Velkými výhodami metody jsou vysoká rychlost měření a jednoduchá obsluha fluorimetru. Zároveň při měření není nutné, dokonce je velmi nežádoucí, aby se rostliny poškodily (např. odběrem vzorků) a měří se přímo na listech živé rostliny.

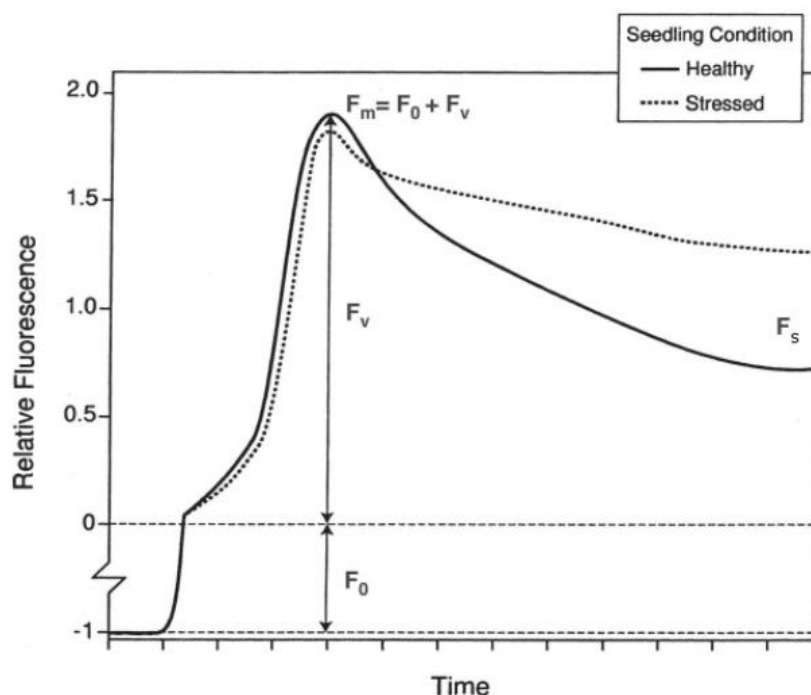
V současnosti jsou vyvíjeny různé technologie založené na fluorescenci chlorofylu, které by automaticky detekovaly a odstranily plodiny napadené škůdci ještě před viditelným projevem poškození (Gogoláková et Štrba, 2011).

Cílem práce je podat stručný přehled o fluorescenci chlorofylu a v praktické části interpretovat vlastní experiment na pšenici seté (*Triticum aestivum*). Vlastní pokus byl prováděn na Univerzitě A. Mickiewicze v Polsku. Dvě odrůdy pšenice seté (Seance a Granny) byly vystaveny působení chloridu sodného a vysoké intenzity světla. Měření fluorescence proběhlo vždy po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách od přidání chloridu sodného.

Teoretická část

1 Indukovaná fluorescence chlorofylu

Intenzita fluorescence chlorofylu indukované světlem se dynamicky mění, v průběhu času tedy nabývá různých hodnot. Změny těchto hodnot byly objeveny v roce 1931 H. Kautskym a A. Hirschem a tento jev se pojmenoval jako Kautského efekt. Grafický záznam těchto změn v průběhu času se nazývá fluorescenční indukční křivka, zkráceně FIK (viz Obr. 1) (Roháček et Barták, 1999). Na obrázku 1 je velmi dobře rozeznatelná odlišná kondice jednotlivých vzorků. Pokles z fluorescenčního maxima (F_m) na hodnotu F_s (steady state) u zdravé varianty (plná čára) je mnohem větší, než u stresovaného vzorku, kde je fluorescence chlorofylu stále zvýšená. Dále lze z této FIK vypočítat působení stresu i výpočtem parametru F_v/F_m (Papageorgiou et Govindjee, 2004), přičemž u stresovaného vzorku by vyšel nižší. Stejně tak výpočtem parametru Rfd by se došlo ke stejnému výsledku.



Obr. 1: Fluorescenční indukční křivka chlorofylu. F_0 - minimální fluorescence v temnotně adaptovaném stavu, F_v - maximální výtěžek variabilní fluorescence v temnotně adaptovaném stavu, F_m - maximální fluorescence v temnotně adaptovaném stavu, F_s - fluorescence při stálém stavu fotochemických a nefotochemických procesů, plná čára - zdravý objekt, přerušovaná čára - stresovaný objekt. Převzato z Ritchie G. A. (2006). Chlorophyll fluorescence: What is it and what do the numbers mean? Forest service proceeding 43: 34-43

Praktické využití indukované fluorescence chlorofylu spočívá především ve studiích z rostlinné fyziologie a ekofyziologie. Vývoj prvních fluorimetrů započal

v osmdesátých letech dvacátého století. Nespornými výhodami fluorimetrie chlorofylu jsou nedestruktivnost vůči rostlinám a rychlost měření, navíc je v současnosti možné provádět měření přímo v terénu a to i za denního světla (Maxwell et Johnson, 2000).

Zájem o aplikování metod fluorescence chlorofylu od osmdesátých let dvacátého století výrazně vzrostl. Měření fluorescence chlorofylu se často provádí současně ještě s jinou metodou k měření fotosyntézy. Paralelně s měřením indukované fluorescence chlorofylu probíhá například analýza gazometrickými metodami, gravimetrické stanovení intenzity fotosyntézy či kvantitativní stanovení obsahu určité látky (např. prolin, kyselina abscisová atd.).

Gazometrické metody jsou založeny na měření rychlosti a množství plynů vyměněných při fotosyntéze pomocí infračervených analyzátorů plynů, především se sleduje spotřeba CO₂. Gravimetrické metody vychází z měření přírůstku hmotnosti sušiny, neboť hmotnost narůstá zabudováním uhlíku, který rostliny neprodýchají.

Mnoho vědců publikovalo práci zaměřenou především na fluorescenci chlorofylu - Maxwell et Giles (2000), Roháček a Soukupová (2003), Roháček et al. (2008), Barták (2011) atd. Lichtenthaler et al. (2004) zveřejnili článek založený především na popisu parametrů fluorescence chlorofylu, zejména R_{fd} . Praktickým experimentem se třemi různými druhy rostlin předvedli vědci z Nového Zélandu (Horgan et Zabkiewicz, 2008) porovnání parametru R_{fd} a maximálního kvantového výtěžku fluorescence (F_v/F_m).

Kosová et al. (2015) provedla experiment, ve kterém byla porovnávána tolerance k zasolení u dvou odrůd ječmene setého (*Hordeum vulgare*). Pozorován byl mimo jiné také fluorescenční parametr F_v/F_m . Pokus byl prováděn na české odrůdě Amulet a na syrské odrůdě Tadmor při působení mírné a vysoké koncentrace NaCl. Použity byly koncentrace 100 mM a 300 mM přidané najednou a stejné koncentrace při postupném dodávání po 50 mM každý druhý den. Ječmen mezi obilninami vykazuje nejvyšší toleranci vůči zasolení, oproti tomu nejnižší má rýže (Płazek et al., 2015). Pro udržitelný růst ječmene je hraniční koncentrace NaCl 250 mM. V experimentu Kosové et al. (2015) bylo potvrzeno, že odrůdy z pouštních a polopouštních oblastí vykazují lepší toleranci vůči zasolení, než odrůdy evropské (více viz Diskuze).

Experiment z části totožný s pokusem v bakalářské práci provedl Perveen et al. (2013). Zkoumány byly dvě odrůdy pšenice seté (*Triticum aestivum*) v podmínkách zasolení. Byla použita koncentrace 150 mM NaCl na rostliny staré dvacet jedna dní. Avšak při měření fluorescence bylo nastaveno mnohem silnější aktinické i saturační světlo, doba zastínění byla o deset minut delší (30 min) a koncentrace 150 mM bylo dosaženo postupně s denním odstupem po 50 mM. Odrůda označená S-24 je v článku popsána jako tolerantní k zasolení a odrůda MH-97 naopak jako

mírně senzitivní vůči zasolení. Hlavním cílem pokusu bylo zjistit nejvíce efektivní koncentraci látky TRIA (triancontanol), což je jeden z nových růstových regulátorů rostlin, který má zlepšovat stav rostlin. Během experimentu opět bylo součástí měření parametrů fluorescence - F_v/F_m a ETR.

Polští vědci (Płazek et al., 2015) zkoumali toleranci k zasolení dvou odrůd pšenice seté (*Triticum aestivum*) a dvou odrůd pšenice tvrdé (*Triticum durum*). Měření bylo prováděno na šestitýdenních rostlinách při dodávání NaCl jednou týdně. Opět bylo zjištěno, že oba druhy pšenice mají sníženou schopnost fotosyntézy. Měření parametru fluorescence F_v/F_m však byly zjištěny velmi malé změny při použití všech koncentrací NaCl (20, 40, 70, 100, 125, 150 mM). Světelná fáze fotosyntézy tak nebyla použitými koncentracemi narušena. Po porovnání se všemi výsledky stanovili, že nějaký proces brání fotosystémům vyzářit přebytečnou energii ve formě fluorescence. Výsledky z ostatních použitých metod (obsah prolinu, výměna plynů, aj.) již ukázaly jasné rozdíly mezi odrůdami pšenice. Płazek et al. (2015) upozorňují na mylný předpoklad, že pšenice tvrdá je více senzitivní k zasolení, než pšenice setá, mnohem více je tolerance k zasolení závislá na genotypu zkoumané odrůdy.

Vliv intenzity světla a teploty zkoumali Janka et al. (2015) pomocí indukované fluorescence chlorofylu na chryzantémách ve skleníku s nastavitelnými podmínkami prostředí. Použity byly různé intenzity světla: 171, 311, 485 a 667 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a teploty od 20 do 36°C. Měření bylo provedeno třetí a šestý den. Zastínění rostlin trvalo třicet minut. Parametr fluorescence užitečný při radiačním stresu kromě F_v/F_m je NPQ. NPQ se zvyšovalo se vzrůstající intenzitou světla a teplotou, což znamená snížení efektivity fotosyntézy.

Pro správnou interpretaci výsledků fluorescenčního měření, je nezbytné porozumět dějům odehrávajících se v rostlinách po dopadu světla. Světlo (přesněji viditelné elektromagnetické záření) lze popsat jako proud fotonů o určité vlnové délce a energii. Rostliny využívají pro fotosyntézu světlo v rozmezí vlnových délek 400-700 nm. Tato oblast spektra je označovaná jako FAR - fotosynteticky aktivní radiace. Fotony absorbované molekulami ve světlo-sběrných komplexech (LHCs - light harvesting complexes) chloroplastů vyvolávají přechod elektronu ze základního stavu do stavu excitovaného. Excitované elektrony mají větší obsah energie než elektrony ve stavu základním, avšak tento stav elektronu není stabilní. Rostliny absorbovanou energii deexcitují třemi odlišnými procesy.

Nejdůležitější a nejvíce využívaný deexcitační proces je fotosyntéza, kde se energie fotonů využije k oddělení náboje a dále k přenosu elektronu dle takzvaného Z-schématu. V mnohem menší míře je světelná energie disipována ve formě tepla. Při fluorescenci dochází k re-emitaci fotonů v oblasti červeného spektra s nižší energií a delší vlnovou délkou (s maximem kolem 700 nm), než mělo záření excitační. V zelených vyšších rostlinách emitují fluorescenční záření především molekuly chlorofylu *a* v chloroplastech po ozáření viditelným či UV světlem. Za

pokožkové teploty pochází více než 90% fluorescenčního záření ze světlo-sběrných komplexů PS II (Lichtenthaler et al., 2005).

Výše jmenované deexcitační procesy si mezi sebou konkurují - při poklesu zastoupení fotochemických dějů (rozdělení náboje v reakčních centrech PS II, elektronový transportní řetězec), dojde ke zvýšení intenzity nefotochemických procesů (nezářivá disipace energie na teplo, fluorescence). Na fotochemické pochody je spotřebováno přibližně 80% energie a zhruba 15% je vyzářeno v tepelné formě. Zastoupení fluorescence je velmi nízké, odhad se pohybuje od 1-2% (Maxwell et Johnson, 2000, Ashraf et Harris, 2013) do 3-5% (Soukupová et Roháček, 2003, Roháček et al., 2008).

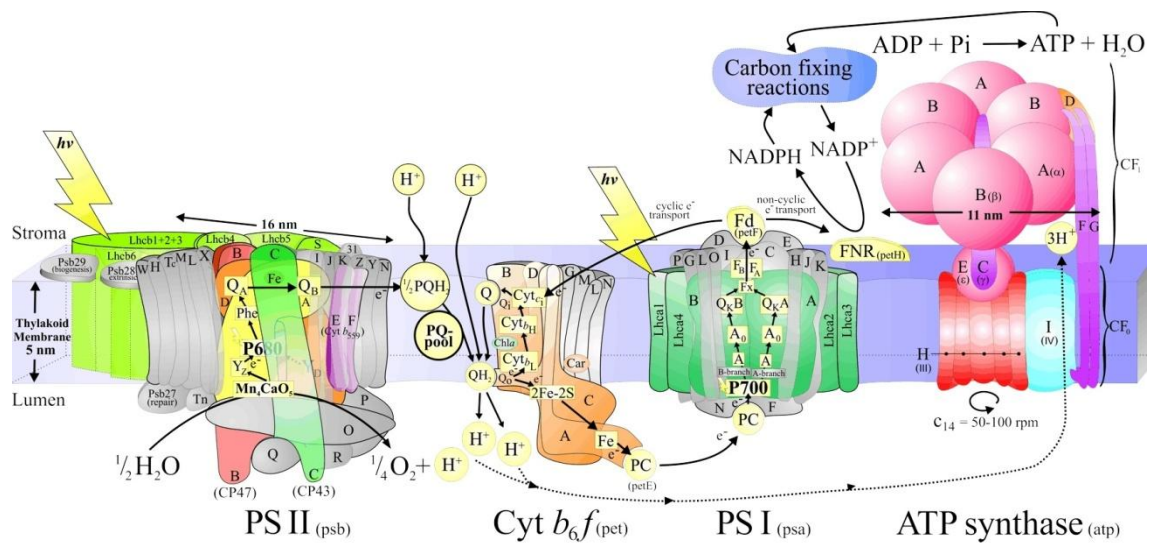
Základní reakcí rostlin při osvětlení nadměrnou intenzitou světla, je fotoinhibice (Janka et al., 2015), tedy pokles rychlosti fotosyntézy, a tím i její efektivity. Zasolení půd způsobuje snížení osmotického potenciálu okolní půdní vody, a tím omezuje její příjem kořeny rostlin. Zároveň zasolení zvyšuje obsah iontů (především Na^+), které pronikají plazmatickou membránou a hromadí se uvnitř buněk, čímž způsobují iontový stres. Některé druhy rostlin se umí osmoticky přizpůsobit nepříznivému osmotickému potenciálu skladováním přebytečných sodných iontů ve vakuolách nebo produkcí takzvaných osmo-protektantů, tedy osmoticky aktivních látek vyrovnávající vliv Na^+ . Obilniny při osmotickém stresu akumulují v buňkách většinou glycinbetain a prolin. (Kosová et al., 2015). Sůl v půdě také může způsobit inhibici růst podporujících hormonů rostlin (gibereliny, cytokininy, auxiny a kyselina salicylová) a naopak stimuluje produkci hormonů souvisejících se stresem, jako je kyselina abscisová a jasmonová (Perveen et al., 2013).

Ačkoliv podíl znovu vyzářeného kvanta světla fluorescencí chlorofylu je minimální, intenzita a změny výtěžku fluorescence v průběhu času umožňují přímo zkoumat využití excitační energie PS II a nepřímo také ostatními proteinovými komplexy na tylakoidních membránách. Fluorescence chlorofylu tedy velmi rychle znázorňuje změny fotosyntetické aktivity (Soukupová et Roháček, 2003, Roháček et al., 2008).

1.1 Elektronový transportní řetězec v chloroplastech

V tylakoidní membráně chloroplastu jsou zabudované dva typy pigment-proteinových komplexů - fotosystémy PS I a PS II. Liší se od sebe v maximu absorpce vlnové délky světelného spektra. PS II má ve svém reakčním centru (RC) speciální pár chlorofylu *a* značený P680 s maximem absorpce 680 nm. Reakční centrum PS I obsahuje pigment P700 s maximem absorpce kolem 700 nm a téměř nefluoreskuje.

Elektronový transportní řetězec v tylakoidní membráně chloroplastu je proces přenosu elektronů z PS II na PS I za vzniku redukované formy NADPH a protonového gradientu pro pohon ATP-syntázy (Roháček et al., 2008).



Obr. 2: Komponenty tylakoidní membrány chloroplastu pro elektronový transport. (Nield, 1995-2015. Investigating macromolecular structures [online]. [cit. 3. 7. 2015]. Dostupné z WWW: <http://macromol.sbcs.qmul.ac.uk/resources/AllComplexes_25Nov2011_1800px.gif>.) *hv* - světelné kvantum; *Lhc* - světlo-sběrný komplex; PS II - fotosystém II; P680 - pigment s absorpčním maximem 680 nm; *QA* - chinon A; *QB* - chinon B; PQH₂ - plastochinol; PQ-pool - zásobník plastochinonů; Cyt_{b₆f} - cytochromový komplex; PC - plastocyanin; PS I - fotosystém I; P700 - pigment s absorpčním maximem 700 nm; Fd - ferredoxin; FNR - ferredoxin-NADP-reduktáza

Fotony jsou absorbovány molekulami pigmentů světlo-sběrných komplexů ve fotosystémech, což může vést k excitaci elektronů. Excitovaný elektron se buď navrátí do původního stavu, nebo předá energii dalšímu elektronu stejné molekuly. LHCs mají molekuly pigmentů specificky rozmístěné, což dovoluje přenos energie i na další molekuly. Světlo-sběrné komplexy jsou lokalizovány v tylakoidní membráně okolo reakčního centra a jsou s ním propojeny přes specifický pár molekul chlorofylu *a*. U většiny vyšších rostlin náleží k jednomu fotosystému desítky světlo-sběrných komplexů.

Absorbovaná energie z LHC je převedena do reakčního centra PS II, kde je předána molekule chlorofylu *a* specifického páru a způsobí její excitaci. V excitovaném stavu molekuly je umožněn přesun elektronu na primární akceptor - molekulu feofytinu (Pheo *a*), čímž dochází k oddělení náboje. Molekula chlorofylu *a* získává kladný náboj, ale je navrácena do původního neutrálního stavu přijetím elektronu z přidruženého kyslík vyvíjejícího centra (OEC - oxygen evolving center) a může tak znovu přijmout energii z LHC. Během těchto reakcí se mění energie absorbovaného elektromagnetického záření v energii fotochemickou. Výsledkem je získání elektronu, který je dále využit v řadě redoxních reakcí (Roháček et al., 2008).

Z feofytinu je dále elektron přenesen přes molekulu plastochinonu Q_A na mobilní molekulu Q_B . Plastochinon Q_B přijme další elektron a zároveň dva protony, poté v redukované formě Q_BH_2 opouští reakční centrum PS II a difunduje membránou tylakoidu (Taiz et Zeiger, 2006).

Následuje takzvaný lineární elektronový transportní řetězec, což je kaskáda redukčně-oxidačních procesů začínající u plastochinonu Q_B , pokračující přes plastochinonový zásobník (plastoquinone pool) na transmembránový cytochromový komplex b_6f . Během transportu jsou přenášeny protony ze stromatu do lumen (dutina tylakoidu), což přispívá k protonovému gradientu spolu s protony s kyslík vyvíjejícího centra (OEC), který pohání ATP-syntázu a umožňuje tak vznik makroenergetických molekul adenosintrifosfátu (ATP).

Elektrony z PS II jsou dále transportovány dalším mobilním kompartmentem - plastocyaninem (PC) do reakčního centra PS I. S dodatečnou energií ze světlo-sběrného komplexu PS I je elektron převeden na fylochinon a poté na FeS cluster. Ferredoxin-NADP-reduktáza (FNR) na stromatální straně membrány následně katalyzuje redukci $NADP^+$ na NADPH (Roháček et al., 2008).

1.2 Průběh měření a parametry fluorescence chlorofylu

Množství fluorescence z PS II se stanovuje jako kvantový výtěžek fluorescence chlorofylu (Φ_F nebo Y_F - quantum yield of chlorophyll fluorescence). Ten je definován jako podíl celkového počtu emitovaných fotonů ve formě fluorescence (n_F) k počtu fotonů absorbovaných (n_A) (Roháček et al., 2008).

$$\Phi_F = \frac{n_F}{n_A}$$

Fluorescence se měří pomocí fluorimetrů, v současnosti se nejvíce používají fluorimetry na principu pulzní amplitudové modulace (PAM) vyvolaného signálu fluorescence chlorofylu. Metoda PAM je založena na modulaci světelného zdroje, tedy na změnách intenzity osvětlení a na naladění detektoru na příjem pouze fluorescenčních emisí (Lichtenthaler et al., 2005 uvádí rozsah vlnových délek zhruba 705-740 nm).

Typický PAM fluorimetr produkuje několik typů světelných signálů z různých světelných zdrojů. Takzvané měřící světlo (MR - measuring radiation) je složeno z velmi krátkých (1-3 μ s) opakujících se pulzů červeného světla o nízké a konstantní intenzitě s maximem vlnové délky 650 nm. MR indukuje fluorescenci na velmi nízké úrovni - minimální fluorescence (F_0). Aktinické světlo (AR) spouští primární fotosyntetické procesy a současně mění kvantový výtěžek fluorescence chlorofylu. Změna výtěžku je detekována jako amplitudová modulace pulsujícího signálu indukovaného měřícím světlem. Třetím typem osvětlení je saturační puls (SP), který dočasně redukuje (uzavře) reakční centra PS II. Lichtenthaler et al. (2005) uvádí intenzitu SP 3000 μ mol $m^{-2} s^{-1}$. Zároveň SP redukuje všechny elektronové přenašeče v plastochinonovém zásobníku (PQ pool). Posledním typem je dlouhovlnné červené záření (FR), které podporuje aktivitu PS I, což vede k rychlé reoxidaci PQ zásobníku (Maxwell et Johnson, 2000, Roháček et al., 2008).

Existují dva typy fluorimetrů - zobrazovací a nezobrazovací. U nezobrazovacích fluorimetrů je výstupem průběžného měření fluorescence osvětleného vzorku časový záznam fluorescence, tzv. fluorescenční indukční kinetika. Výsledky mohou být zobrazeny jako fluorescenční indukční křivka, nebo pouze jako soubor parametrů. Zobrazovacími fluorimetry se měří změny fluorescenční emise na ploše. Ačkoliv nelze měřit procesy na tylakoidní membráně, ale lze odhalit prostorovou různorodost, a tím například odhalit působení stresoru předtím, než bude patrné pouhým okem (Soukupová et Roháček, 2003). Práce je dále zaměřena na nezobrazovací typ fluorimetrů.

Pro měření výtěžku fluorescence chlorofylu je potřeba zastínit rostlinu nebo její měřenou část na 15-20 minut (Lichtenthaler et al., 1986). Během temnotní fáze jsou všechna reakční centra PS II reoxidována. V tomto stavu lze při osvětlení slabým měřícím zářením (MR) zaznamenat minimální intenzitu fluorescence F_0 .

Následně je vzorek osvětlen krátkým intenzivním saturačním pulzem (SP) bílého světla, což má za následek uzavření všech aktivních reakčních center PS II. Uzavření center PS II je způsobeno redukcí jejich elektronového akceptoru Q_A . V této fázi lze naměřit maximální výtěžek fluorescence (F_M). Rozdíl mezi F_M a F_0 se nazývá variabilní fluorescence F_V nebo také maximální výtěžek variabilní fluorescence v temnotně adaptovaném stavu (Soukupová et Roháček, 2003, Roháček et al., 2008).

Ozáření saturačním pulzem během zapnutého měřicího anebo i aktinického světla dovoluje vyhodnocovat fotochemické a nefotochemické zhášení fluorescence - snižování její intenzity. Všechny změny výtěžku fluorescence během světelné periody jsou spojeny s mechanismem fluorescenčního zhášení (Soukupová et Roháček, 2003). Saturačním pulzem se redukují primární akceptory elektronu Q_A v PS II, zhášení vlivem fotochemických pochodů je tedy plně potlačeno a fluorescence dosahuje maximálního výtěžku. V takovém případě je veškerá absorbovaná světelná energie přeměněna na fluorescenci a teplo. Předpokládá se, že během krátkého SP se poměr mezi kvantovým výtěžkem fluorescence (Φ_F) a nezářivou deexcitací (Φ_D) nemění a stejně tak ani nefotochemické zhášení (q_N - nonphotochemical quenching) (Lichtenthaler et al., 2005, Roháček et al., 2008).

Po ozáření saturačním pulzem je zapnuto aktinické světlo (AR), během této doby již působí současně nefotochemické i fotochemické procesy. Intenzita fluorescence vystoupá do bodu F_P , což označuje maximální hodnotu fluorescence při daném ozáření aktinickým světlem. Z bodu F_P poté 3-5 minut (Lichtenthaler et al., 2005) klesá, než se ustálí na hodnotě F_S .

Použitím saturačního pulzu během zapnutého aktinického záření lze získat maximální výtěžek fluorescence chlorofylu ve světelně adaptovaném stavu (F_M'). Po vypnutí AR je vzorek osvětlen na 1-2 s dlouhovlnným červeným světlem (FR), který urychlí reoxidaci PS II. Poté je zaznamenán minimální výtěžek fluorescence ve světelně adaptovaném stavu (F_0'). Ze získaných parametrů lze stanovit maximální výtěžek variabilní fluorescence ve světelně adaptovaném stavu (F_V') (Soukupová et Roháček, 2003, Lichtenthaler et al., 2005, Roháček et al., 2008).

Nejvíce využívaným parametrem jako indikátor fotoinhibice či poškození PS II je maximální kvantový výtěžek fotochemie PS II (F_V/F_M nebo Φ_{P_0}). Stanovuje množství fotochemické kapacity při otevřených RC PS II v temnotně adaptovaném stavu. Při nestresových podmínkách je hodnota Φ_{P_0} téměř stejná pro mnoho různých druhů rostlin - pohybuje okolo hodnoty 0,8 (Ashraf et Harris, 2013), Lichtenthaler et al. (2005) uvádí větší rozpětí 0,74 - 0,85. Rostliny, které jsou fotoinhibovány, mají tuto hodnotu značně sniženu. Nelze však určit, zda příčinou poklesu F_V/F_M je fotoinhibice PS II pouze podle poměru F_V/F_M , vliv mohou mít i jiné okolnosti. Fotoinhibici fotosyntetického aparátu lze ověřit pouze parametrem nefotochemického zhášení (Lichtenthaler et al., 2005). Pro výraznou změnu

hodnoty F_V/F_M je potřeba působení silného stresu. Znatelný pokles F_V/F_M může být navíc zaznamenán až po více než dvaceti čtyřech hodinách. Výhodou je ale velmi rychlé změření parametru a jeho výpočet (Horgan et Zabkiewicz, 2008, Boamah et al., 2011).

Oproti tomu v současnosti stále více používaný parametr R_{FD} ($= F_D/F_S$) je mnohem citlivější na působení stresu. Čím větší je hodnota R_{FD} , tím vyšší je fotosyntetická aktivita zkoumaného vzorku. Měřením R_{FD} pomocí kontinuálního saturačního světla lze rozdíly ve výtěžku fluorescence zjistit během několika hodin. R_{FD} je často označován jako index vitality (Lichtenthaler, 2005). Horgan a Zabkiewicz (2008) testovali rozdíly mezi R_{FD} a F_V/F_M parametry při působení herbicidů na tři různé druhy rostlin. Při působení lipofilního pesticidu Diuron bylo zaznamenáno malé snížení v poměru F_V/F_M , ale velký pokles parametru R_{FD} . Na kontrolních variantách bylo zjištěno, že R_{FD} některých druhů se mění v závislosti na denním cyklu, ačkoliv hodnota F_V/F_M zůstává téměř stejná, proto by se měl při měření R_{FD} brát ohled na denní dobu.

Důležitým dějem při měření fluorescence chlorofylu je zhášení fluorescence, což zahrnuje všechny procesy, které snižují výtěžek fluorescence pod její maximální hodnotu (Barták, 2011). Fotochemické zhášení je vyjádřeno parametrem q_P , který indikuje aktuální množství excitační energie zachycené a přeměněné na chemickou energii v PS II ve světle adaptovaném stavu (Roháček et al., 2008, Barták, 2011). Fotochemické zhášení fluorescence lze vypočítat podle následující rovnice:

$$q_P = \frac{(F_M' - F_S)}{(F_M' - F_0')} \quad \text{nebo také} \quad q_P = \Delta F / F_V'$$

Nefotochemické zhášení q_N zahrnuje všechny procesy snižující fluorescenci během světelné fáze, které nejsou spjaty s redoxním stavem Q_A . Tyto děje většinou vedou k nezářivé disipaci excitační energie na teplo. Nefotochemické zhášení je způsobováno energetickým zhášením závislým na tvorbě pH gradientu (q_E), konformačními změnami v tylakoidní membráně (q_T) a radiačním stresem - fotoinhibicí (q_I) (Roháček et al., 2008, Barták, 2011).

$$q_N = (F_V - F_V') / F_V = 1 - (F_V' / F_V)$$

Parametr NPQ je často používán jako indikátor přeměny přebytečné excitační energie na teplo (Roháček et al., 2008). NPQ lze vypočítat následovně:

$$NPQ = (F_M - F_M') / F_M'$$

Parametr F_S by mohl být využit například při interpretaci dat z průzkumu z dálkově snímané vegetace (Zarco-Tejada et al., 2000b; Ananyev et al., 2005). Bylo prokázáno, že F_S je spjatý s asimilací CO_2 a mění se podle ročního období - při nástupu vegetační sezóny je hodnota vysoká a na podzim a v zimě nízká. Lze tak pozorovat začátek a konec vegetační sezóny (Freedman et al., 2002; Soukupová et al. 2008).

Přehled základních parametrů při měření fluorescence:

F₀ - minimální fluorescence indukovaná MR v temnotně adaptovaném stavu
(*ground fluorescence in the dark-adapted state*)

F_M - maximální fluorescence indukovaná SP v temnotně adaptovaném stavu
(*maximum Chl fluorescence at SP in the dark-adapted state*)

F_P - maximální fluorescence indukovaná AL (*maximum Chl fluorescence at AL in the dark-adapted state*)

F₀' - minimální fluorescence po vypnutí AL, obvykle po FR pulzu (*ground fluorescence in the light-adapted state*)

F_M' - maximální fluorescence indukovaná SP ve světle adaptovaném stavu
(*maximum Chl fluorescence at SP in the light-adapted state*)

F_S - fluorescence při stálém stavu fotochemických a nefotochemických procesů
(*steady state Chl fluorescence*)

Parametry získané výpočtem:

F_V - maximální výtěžek variabilní fluorescence v temnotně adaptovaném stavu
(*maximum variable chlorophyll fluorescence in dark-adapted state*)

$$F_V = F_M - F_0$$

F_V' - maximální výtěžek variabilní fluorescence ve světle adaptovaném stavu
(*maximum variable chlorophyll fluorescence in light-adapted state*)

$$F_V' = F_M' - F_0'$$

F_D - míra poklesu fluorescence z bodu F_P do bodu F_S (*fluorescence decrease*)

$$F_D = F_P - F_S$$

F_V/F_M (Φ_{P0}) - maximální kvantový výtěžek fotochemie PS II v temnotně adaptovaném stavu (*maximum quantum yield of PS II photochemistry*)

$$F_V/F_M = \frac{(F_M - F_0)}{F_M} = 1 - \frac{F_0}{F_M}$$

F_V'/F_M' - maximální kvantový výtěžek ve světle adaptovaném stavu

$$F_V'/F_M' = \frac{(F_M' - F_0')}{F_M'}$$

R_{FD} - relativní pokles fluorescence - označován také jako index vitality
(*fluorescence decrease ratio*)

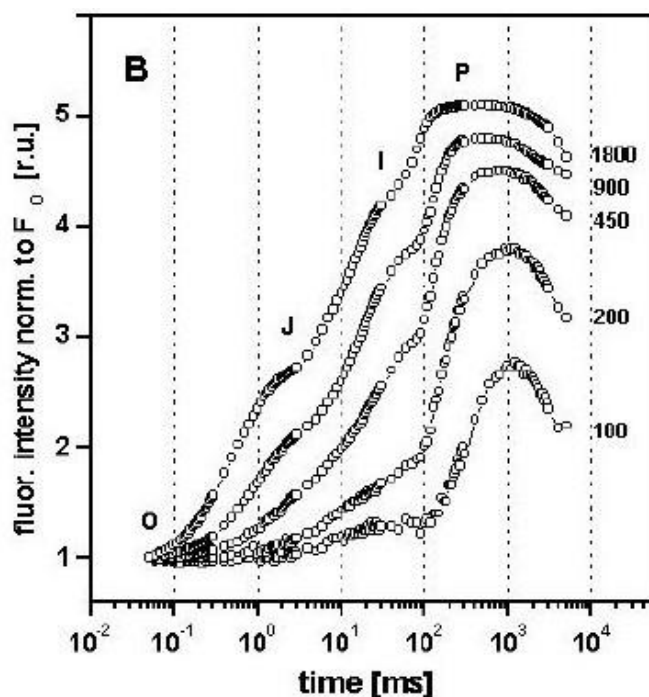
$$R_{FD} = \frac{F_P - F_S}{F_S} \quad \text{lze také vypočítat jako } R_{FD} = \frac{F_M - F_S}{F_S} \quad \text{nebo } R_{FD} = \frac{F_D}{F_S}$$

(van Kooten et Snel, 1990, Schreiber et al., 1996, Roháček et al., 2008)

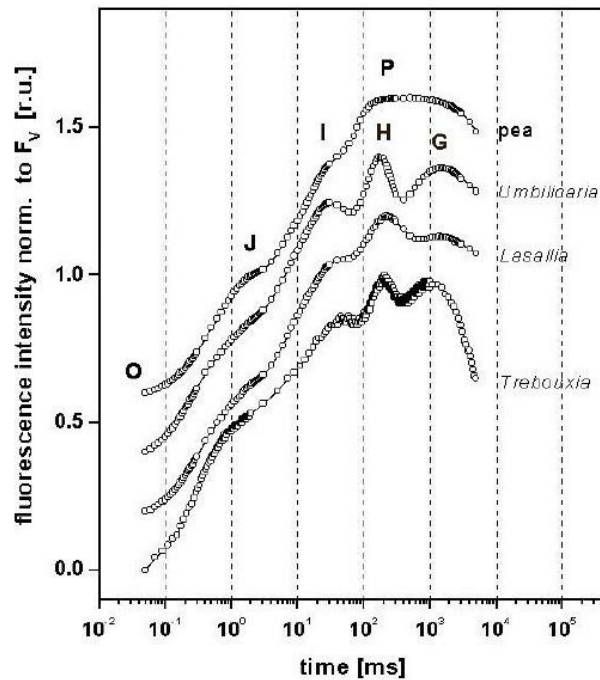
1.3 Fluorescenční kinetika

Dle časové odezvy fluorescence chlorofylu se odlišují dvě fáze měření: rychlá a pomalá fluorescenční indukce chlorofylu. Rychlá fluorescenční indukce probíhá v rámci několika vteřin (dle Roháčka et al., 2008 během 0-3 s) během temnotně adaptovaného stavu do vystavení vzorku aktinickému světlu na 1-2 s. Pomalá fluorescenční indukce chlorofylu trvá od ozáření předzatemněného vzorku několik minut, dokud není dosažen stav úplné fotosyntetické aktivity F_s (Roháček et al., 2008, Gururani et al., 2015).

Rychlá indukční kinetika fluorescence chlorofylu vykazuje několik významných úrovní označených písmeny O, J, I, P, odtud se příslušné indukční křivce přezdíví křivka OJIP. Úroveň fluorescence postupně narůstá od bodu „O“ k bodu „P“, přičemž se postupně inhibuje elektronový transport v tylakoidní membráně. Bod „O“ (angl. origin) odpovídá minimálnímu výtěžku fluorescenci F_0 . Salvatori et al. (2014) uvádí čas dosažení bodu „O“ 20 μ s. Body „J“ a „I“ jsou získány ve velmi krátké době od ozáření - ve 2ms a 30 ms. V této době je množství excitační energie v PS II v krátkodobé rovnováze s přenosem této energie elektronovým transportním řetězcem. Úroveň „P“ (angl. peak) odpovídá maximální dosažené hodnotě fluorescence F_P bez použití saturačního pulzu. Po několika desítkách vteřin se sníží fluorescence chlorofylu na původní úroveň „O“ (Roháček et al., 2008, Barták, 2011, Gururani et al., 2015).



Graf 1: Rychlá indukční kinetika fluorescence chlorofylu naměřená na listu hrachu (*Pisum sativum*), vystavenému zvyšujícímu se excitačnímu toku fotonů (PFD - photon flux densities od 100 do 1800 μ mol $m^{-2} s^{-1}$). Převzato z: Roháček et al., 2008. Chlorophyll fluorescence: A wonderful tool to study plant physiology and plant stress. In *Plant Cell Compartments - Selected Topics*. Kerala, India: Research Singpost. str. 41 - 404. ISBN 978-81-308-0104-9.



Graf 2: Rychlá fluorescenční indukce chlorofylu naměřená na listech hrachu (*Pisum sativum*), stélkách dvou lišejníků (*Lasallia pustulata*, *Umbilicaria hirsuta*) a řasy (*Trebouxia* sp.). Převzato z: Roháček et al., 2008. Chlorophyll fluorescence: A wonderful tool to study plant physiology and plant stress. In *Plant Cell Compartments - Selected Topics*. Kerala, India: Research Singpost. str. 41 - 404. ISBN 978-81-308-0104-9.

Z rychlé fluorescenční indukce lze získat základní parametry: F_0 , F_J , F_I , F_P , časy t , ve kterých bylo těchto hodnot dosaženo a poměry mezi a odlišnými parametry, např. F_v . Pokud je při ozáření použito saturační světlo SP, pak je místo úrovně „P“ dosaženo maximální fluorescence F_M . Čím je použité excitační světlo silnější, tím jsou kratší časy k získání F_J , F_I a F_P , navíc se tyto hodnoty mohou lehce lišit podle zkoumaného druhu rostliny. Pokud by intenzita excitačního světla byla příliš nízká, pak mohou některé úrovně chybět - především F_J . Při měření OJIP křivky u vyšších rostlin jsou patrně všechny zmíněné úrovně křivky. Oproti tomu u nižších rostlin, řas a sinic nelze na izolovaných membránách s PS II naměřit úroveň J. U některých případů jako jsou lišejníky je bod P dvouúrovňový a označuje se samostatnými body - H a G (Roháček et al., 2008).

Rychlá indukce chlorofylu poskytuje důležité informace o dějích během redukce elektronového akceptoru reakčního centra PS II při elektron transportním řetězci v tylakoidní membráně. Tímto přístupem lze měřit tok energie proudící skrz PS II za normálních i za stresových podmínek (Gururani et al., 2015).

Praktická část

2 Metodika práce

Experiment byl realizován v červnu 2014 na Univerzitě Adama Mickiewicze v Polsku v ústavu experimentální biologie, v oddělení fyziologie rostlin. Práci v laboratoři vedli prof. dr hab. Władysław Polcyn a MSc Ewelina Paluch.

Pokus byl prováděn na dvou odrůdách pšenice seté (*Triticum aestivum*) - Seance a Granny. Semena odrůdy Granny byla zakoupena od firmy Oseva Agri Chrudim, a.s. a semena odrůdy Seance od akciové společnosti Selgen. Seance je středně ranou odrůdou odolnou k přísuškům. Vzhledem k odolnosti k nízkým teplotám je vhodná i pro velmi rané setí. Odrůdu Granny je možno vysévat co nejdříve na jaře, neboť snáší i výsev do chladné a vlhké půdy (Selgen a. s., 2015).

Semena byla pěstována nejdříve na vlhkém vatovém substrátu, a poté přesazena zhruba po dvaceti kusech do květináčů se substrátem z kokosové drti, písku a rašeliny. Obě odrůdy pšenice byly rozděleny na kontrolní (C1 a C2) a) stresované (S1 a S2) varianty po dvou opakováních.

Ke stresovaným variantám bylo přidáno 200 ml roztoku chloridu sodného (NaCl) o koncentraci 150 mM a jeho působení bylo měřeno po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách. Dodatečně byl proveden experiment vlivu vysoké intenzity světla (900 μE) na kontrolní i kontaminované varianty. Nejprve byla fluorescence změřena za normální intenzity světla a poté se květináče s rostlinami přesunuly na tři hodiny pod zářivky a provedlo se nové fluorescenční měření.

Stáří rostlin při počátku měření bylo dvacet jedna dní. Měření fluorescence proběhlo vždy na čtyřech listech různých rostlin z jednoho květináče. Z hodnot získaných z každého listu se následně vypočítal průměr pro každou variantu. U některých variant kvůli chybě při průběhu měření byly do výpočtů použity listy pouze tři. Jedna kontrolní varianta (C2) odrůdy Granny byla vyřazena z datového souboru kvůli napadení plísní.

Pro zastínění listů na dobu dvaceti minut se využily klipsy s posunovacím uzávěrem přes otvor, kterým proniká světlo z optického kabelu fluorimetru. Klipsy jsou vyrobeny z bílého plastu pro minimalizaci zvyšování zahřívání listu během měření.

K měření byl použit PAM fluorimetr FMS 1 (Fluorescence Monitoring System) od firmy Hansatech Instruments. Intenzita aktinického světla byla nastavena na 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Doba měření při zapnutém aktinickém světlu byla 180 s. Celé měření jednoho vzorku trvalo tři a půl minuty. Získaná data byla průběžně nahrávána do paměti přístroje ve formě parametrů. Data byla později převedena a statisticky zpracována v počítačovém programu Microsoft Excel.



Obr. 3: Rostliny čerstvě přesazené do květináčů. Zdroj: vlastní



Obr. 4: Rostliny na přirozeném světle. Zdroj: vlastní

3 Výsledky

V grafech a tabulkách níže jsou uváděny průměry sledovaných parametrů a směrodatné odchylky. Tato kapitola porovnává pouze parametry Fv/Fm a Rfd, ze kterých lze vyvodit snížení či zvýšení efektivnosti fotosyntézy. Ostatní parametry z měření jednotlivých listů jsou uvedeny v tabulkách Přílohy 1.

3.1 Odrůda Seance - kontrolní varianta

U kontrolní varianty odrůdy Seance oba sledované parametry (Fv/Fm a Rfd) měly hodnotu vyšší po čtyřiceti osmi hodinách oproti stavu po dvaceti čtyřech hodinách. Toto platí jak u měření za přirozeného světla (viz Tab. 1), tak při vysoké intenzitě osvětlení (viz Tab. 2). Zvýšení hodnoty parametru Fv/Fm po čtyřiceti osmi hodinách vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách při vysoké intenzitě světla je větší o 2,17%, než při měření za přirozeného světla (viditelné v Grafu 3). Stejně tak se i parametr Rfd více zvětšil při měření za vysoké intenzity světla, ale procentuální rozdíl již není tak vysoký - pouze 1,03% (viz Tab. 4, graf 4).

Při porovnání parametrů ve stejném čase za různých intenzit světla je patrný pokles maximálního výtěžku fluorescence i indexu vitality při použití vysoké intenzity světla (viz Tab. 3). Změny parametru Fv/Fm jsou pouze o 3,05% po dvaceti čtyřech hodinách, ale hodnota parametru Rfd se za vysoké intenzity světla snížila o 14,52% oproti hodnotě při měření za přirozeného světla.

Tab. 1: Průměrné hodnoty parametrů Fv/Fm a Rfd se směrodatnými odchylkami po dvaceti čtyřech hodinách a čtyřiceti osmi hodinách za normálního osvětlení.

Seance (C) - normální světlo					
		Fv/Fm	Rfd		Fv/Fm Rfd
Průměr	24 h	0,819	3,395	48 h	0,826 3,628
Směrodatná odchylka		0,021	0,245		0,013 0,233

Tab. 2: Průměrné hodnoty parametrů Fv/Fm a Rfd se směrodatnými odchylkami po dvaceti čtyřech hodinách a čtyřiceti osmi hodinách při osvětlení 900 μ E.

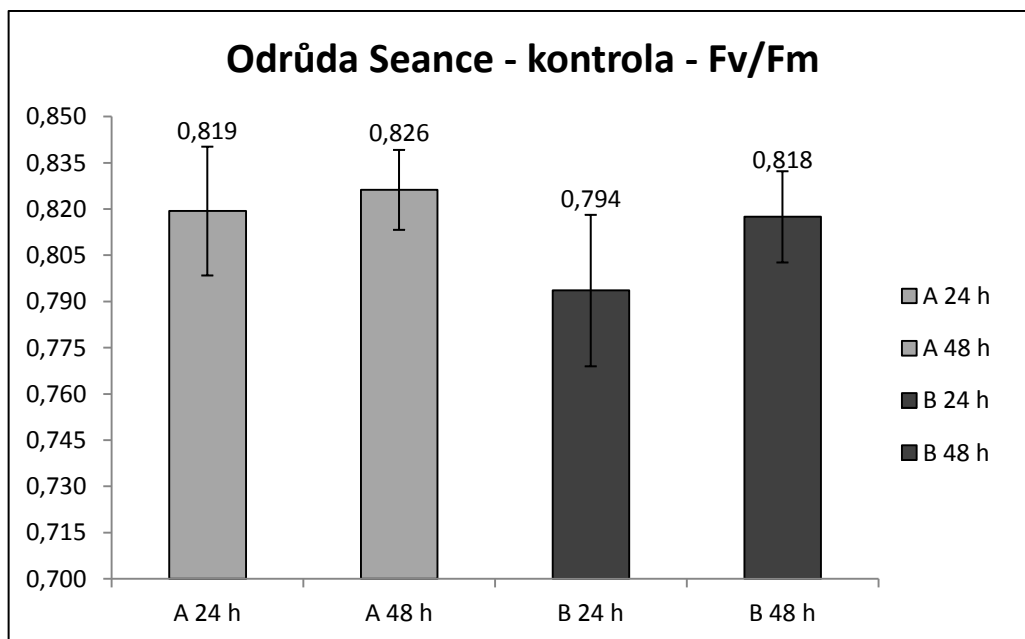
Seance (C) - intenzita 900 μ E					
		Fv/Fm	Rfd		Fv/Fm Rfd
Průměr	24 h	0,794	2,902	48 h	0,818 3,131
Směrodatná odchylka		0,025	0,282		0,015 0,115

Tab. 3: Rozdíly hodnot parametrů F_v/F_m a R_{fd} ve stejném čase při různých intenzitách osvětlení. rozdíl je vždy uváděn jako hodnota při porovnání vyšší intenzity světla oproti normální.

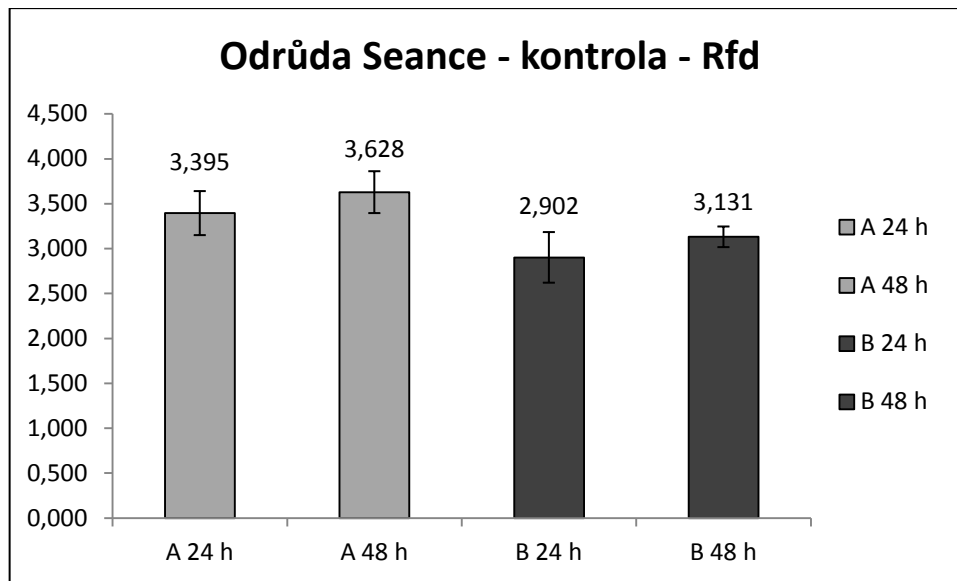
Rozdíly při různých intenzitách světla				
Seance (C)	24 h	48 h	24 h v %	48 h v %
F_v/F_m	-0,026	-0,009	-3,05	-0,97
R_{fd}	-0,493	-0,497	-14,52	-13,70

Tab. 4: Rozdíly hodnot parametrů F_v/F_m a R_{fd} při stejném typu osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách.

Rozdíly při stejných intenzitách světla po 48 h oproti 24 h		
Seance (C)	normální světlo	intenzita 900 μE
F_v/F_m	0,007	0,024
R_{fd}	0,233	0,229
F_v/F_m v %	0,85	3,02
R_{fd} v %	6,86	7,89



Graf 3: Porovnání hodnot parametru F_v/F_m u odrůdy Seance (kontrola) po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách při použití přirozeného světla a vysoké intenzity osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μE .



Graf 4: Porovnání hodnot parametru Rfd u odrůdy Seance (kontrola) po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách při použití přirozeného světla a vysoké intenzity osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μE .

3.2 Odrůda Seance - kontaminovaná varianta

I varianta stresovaná zasolením reagovala na vysokou intenzitu světla snížením hodnot obou sledovaných parametrů, jak při měření po dvaceti čtyřech hodinách, tak po čtyřiceti osmi hodinách vůči měření za přirozeného světla (viz Tab. 5 a 6, Graf 5 a 6).

Hodnota parametru Rfd se po čtyřiceti osmi hodinách při měření za vysoké intenzity světla snížila téměř o 20% oproti měření za přirozeného světla. Parametr Fv/Fm klesl za stejných podmínek o 2,31%. Míra poklesu parametru Fv/Fm po dvaceti čtyřech hodinách i po čtyřiceti osmi hodinách se téměř nezměnila (viz Tab. 7), tedy hodnota stále klesá. Dobře patrná je tato sestupná tendence v Grafu 5.

Po porovnání vlivu času při stejné intenzitě světla se parametr Fv/Fm po čtyřiceti osmi hodinách ještě snížil, zatímco parametr Rfd se naopak mírně zvýšil při obou intenzitách světla (viz Tab. 8). K většímu vzrůstu parametru Rfd došlo při měření za přirozeného světla, hodnota vzrostla takřka dvojnásobně oproti měření při intenzitě světla 900 μE .

Tab. 5: Průměrné hodnoty parametrů Fv/Fm a Rfd se směrodatnými odchylkami po dvaceti čtyřech hodinách a čtyřiceti osmi hodinách za normálního osvětlení.

Seance (S) - normální světlo						
		Fv/Fm	Rfd		Fv/Fm	Rfd
Průměr	24 h	0,833	3,447	48 h	0,822	3,694
Směrodatná odchylka		0,017	0,452		0,011	0,335

Tab. 6: Průměrné hodnoty parametrů F_v/F_m a R_{fd} se směrodatnými odchylkami po dvaceti čtyřech hodinách a čtyřiceti osmi hodinách při osvětlení $900 \mu E$.

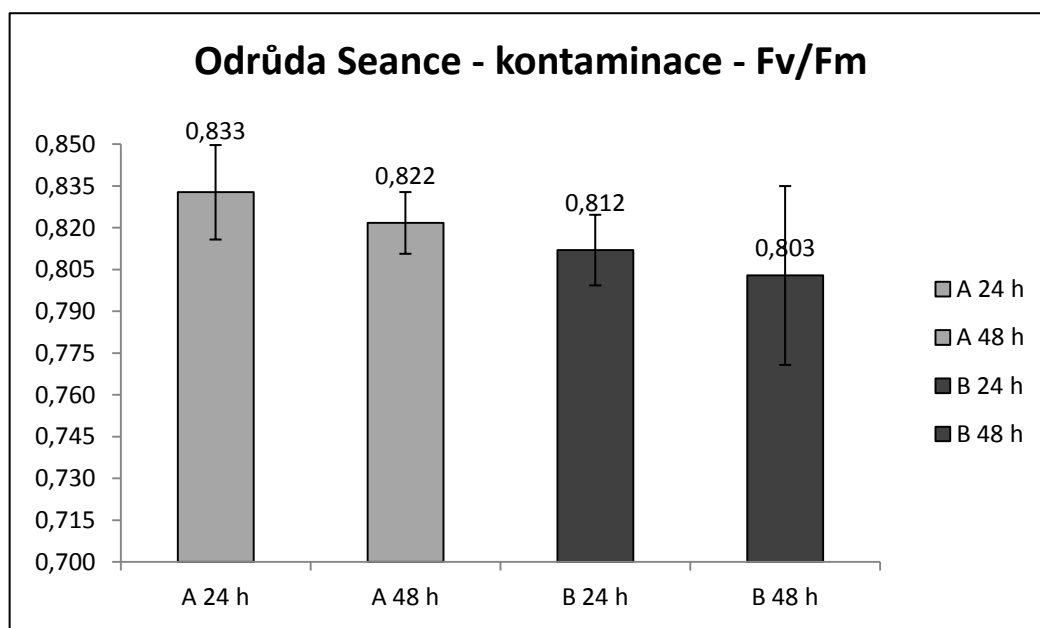
Seance (S) - intenzita $900 \mu E$						
		F_v/F_m	R_{fd}		F_v/F_m	R_{fd}
Průměr	24 h	0,812	2,872	48 h	0,803	2,970
Směrodatná odchylka		0,013	0,242		0,032	0,213

Tab. 7: Rozdíly hodnot parametrů F_v/F_m a R_{fd} ve stejném čase při různých intenzitách osvětlení. Rozdíl je vždy uváděn jako hodnota při porovnání vyšší intenzity světla proti normální.

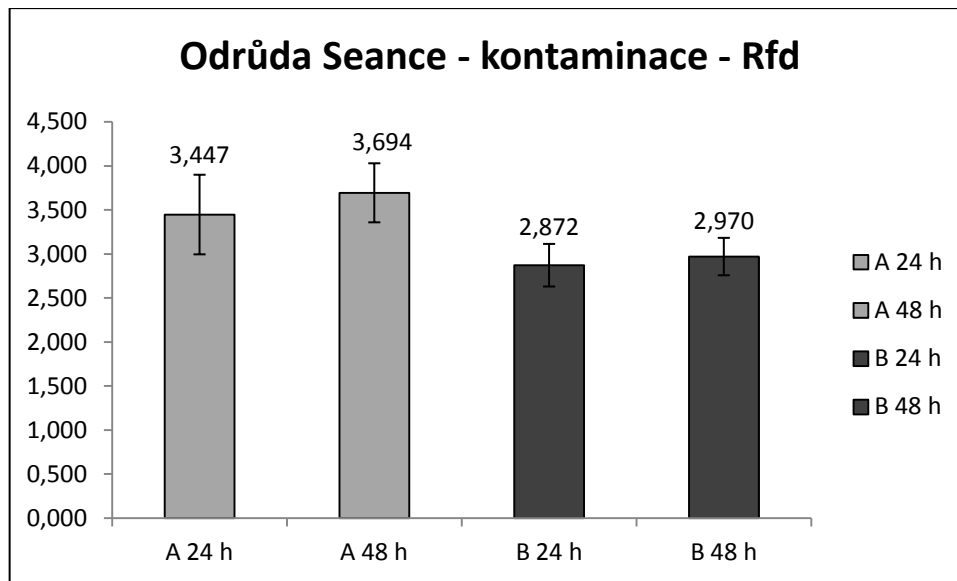
Rozdíly při různých intenzitách světla				
Seance (S)	24 h	48 h	24 h v %	48 h v %
F_v/F_m	-0,021	-0,019	-2,52	-2,31
R_{fd}	-0,576	-0,724	-16,68	-19,60

Tab. 8: Rozdíly hodnot parametrů F_v/F_m a R_{fd} při stejném typu osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách.

Rozdíly při stejných intenzitách světla po 48 h oproti 24 h		
Seance (S)	normální světlo	intenzita $900 \mu E$
F_v/F_m	-0,011	-0,009
R_{fd}	0,247	0,098
F_v/F_m v %	-1,321	-1,108
R_{fd} v %	7,166	3,412



Graf 5: Porovnání hodnot parametru F_v/F_m u odrůdy Seance (kontaminace) po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách při použití přirozeného světla a vysoké intenzity osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla $900 \mu E$.



Graf 6: Porovnání hodnot parametru Rfd u odrůdy Seance (kontaminace) po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách při použití přirozeného světla a vysoké intenzity osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E.

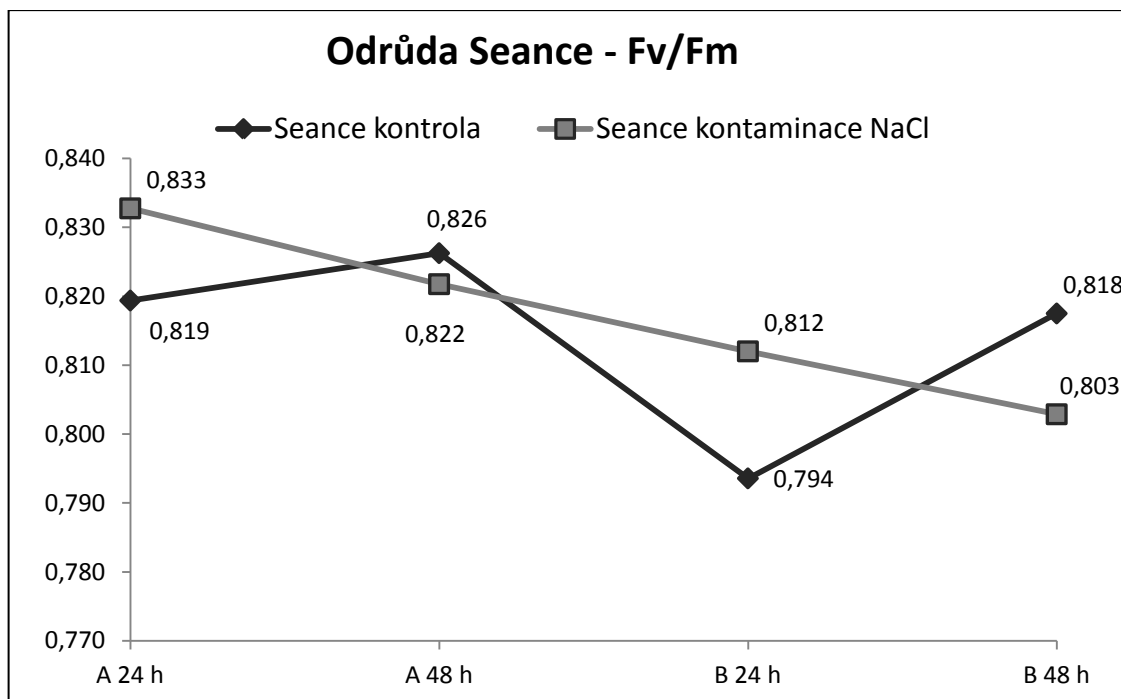
3.3 Odrůda Seance - porovnání kontrolní a kontaminované varianty

Porovnání průběhu změn hodnot parametru Fv/Fm kontrolní a kontaminované varianty ve dvou dnech a za různých intenzit světla ukazuje Graf 7. Velmi dobře patrný je rozdílný průběh obou variant. Varianta kontaminovaná chloridem sodným má klesající tendenci, což znamená, že po čtyřiceti osmi hodinách se její stav vždy ještě zhoršil vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách, a to jak za přirozeného světla, tak za intenzivního osvětlení. Hodnota na počátku měření za přirozeného světla je však vyšší než u kontroly.

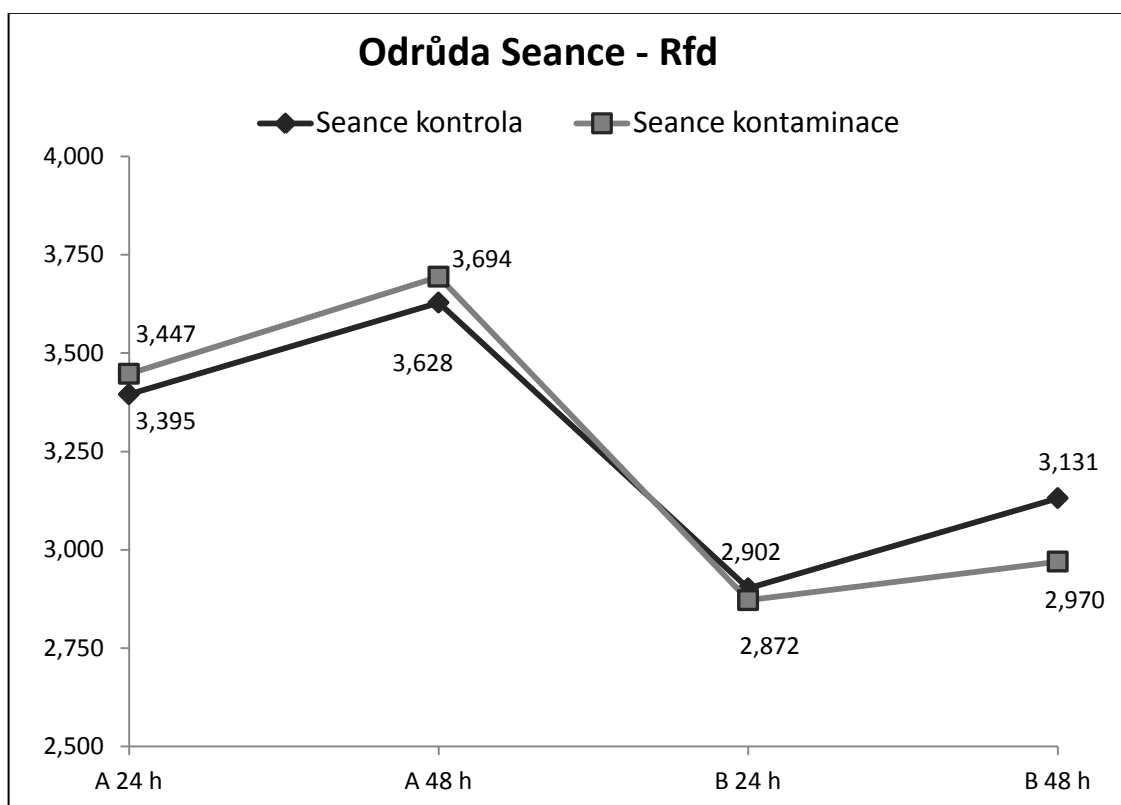
U kontrolní varianty došlo po čtyřiceti osmi hodinách vždy ke zvýšení parametru Fv/Fm. Kontrolní varianta byla mnohem silněji ovlivněna vysokou intenzitou světla po dvaceti čtyřech hodinách, než stresovaná varianta, avšak po čtyřiceti osmi hodinách byla hodnota Fv/Fm u kontroly téměř shodná s její počáteční hodnotou za přirozeného světla (viz Graf 7).

Oproti průběhu změn parametru Rfd je u kontrolní i stresované varianty na první pohled velmi podobný (viz Graf 8). Za přirozeného světla je hodnota parametru Rfd varianty stresované zasolením dokonce mírně vyšší, než varianta kontrolní. U parametru Rfd se oběma variantám zvýšily jeho hodnoty po čtyřiceti osmi hodinách při měření za přirozeného světla, oproti stavu po dvaceti čtyřech hodinách.

Při použití vysoké intenzity světla již je hodnota Rfd po dvaceti čtyřech hodinách nižší u kontaminované varianty, ale rozdíl oproti kontrolní variantě je velmi malý (1%). Hodnota Rfd kontaminované varianty vzrostla po čtyřiceti osmi hodinách podstatně méně, než u kontrolní varianty (viz Graf 8).



Graf 7: Porovnání hodnot parametru Fv/Fm odrůdy Seance - kontaminovaná varianta s kontrolou po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách a za různých intenzit osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E.



Graf 8: Porovnání hodnot parametru Rfd odrůdy Seance - kontaminovaná varianta s kontrolou po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách a za různých intenzit osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E.

3.4 Odrůda Granny - kontrolní varianta

Kontrolní varianta odrůdy Granny má velmi malé rozdíly v hodnotách po čtyřiceti osmi hodinách a dvaceti čtyřech hodinách v obou sledovaných parametrech, jak za přirozeného světla, tak za vysoké intenzity osvětlení (Tab. 9 a 10, Graf 9 a 10). Při obou intenzitách osvětlení se hodnota parametru Fv/Fm snížila po čtyřiceti osmi hodinách oproti stavu po dvaceti čtyřech hodinách, ale v obou případech pouze o necelé procento (0,6%). Parametr Rfd se za přirozeného osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách mírně zvýšil o 2,5%, zatímco při vysoké intenzitě světla se o 2,7% snížil vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách (viz Tab. 12).

Z hodnot obou parametrů je opět patrný pokles parametrů při měření za vysoké intenzity světla vůči měření za přirozeného osvětlení. Při vyšší intenzitě světla se hodnota parametru Fv/Fm snížila o 1,4% oproti měření za přirozeného světla. Rozdíl u parametru Rfd, je opět větší, než u Fv/Fm. Po dvaceti čtyřech hodinách byl parametr Rfd za vysoké intenzity světla nižší o 13,4% oproti měření za přirozeného osvětlení a po čtyřiceti osmi hodinách byl snížen o 17,8% (viz Tab. 11).

Tab. 9: Průměrné hodnoty parametrů Fv/Fm a Rfd se směrodatnými odchylkami po dvaceti čtyřech hodinách a čtyřiceti osmi hodinách za normálního osvětlení.

Granny (C) - normální světlo						
		Fv/Fm	Rfd		Fv/Fm	Rfd
Průměr	24 h	0,839	3,714	48 h	0,834	3,807
Směrodatná odchylka		0,006	0,218		0,010	0,241

Tab. 10: Průměrné hodnoty parametrů Fv/Fm a Rfd se směrodatnými odchylkami po dvaceti čtyřech hodinách a čtyřiceti osmi hodinách při osvětlení 900 μ E.

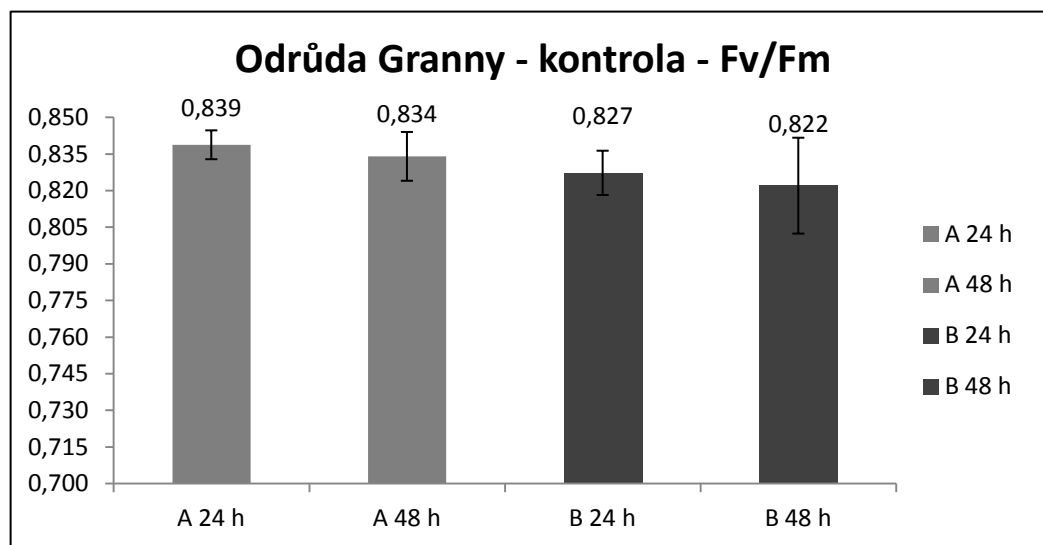
Granny (C) - intenzita 900 μ E						
		Fv/Fm	Rfd		Fv/Fm	Rfd
Průměr	24 h	0,827	3,217	48 h	0,822	3,130
Směrodatná odchylka		0,009	0,221		0,020	0,287

Tab. 11: Rozdíly hodnot parametrů Fv/Fm a Rfd ve stejném čase při různých intenzitách osvětlení. Rozdíl je vždy uváděn jako hodnota při porovnání vyšší intenzity světla oproti normální.

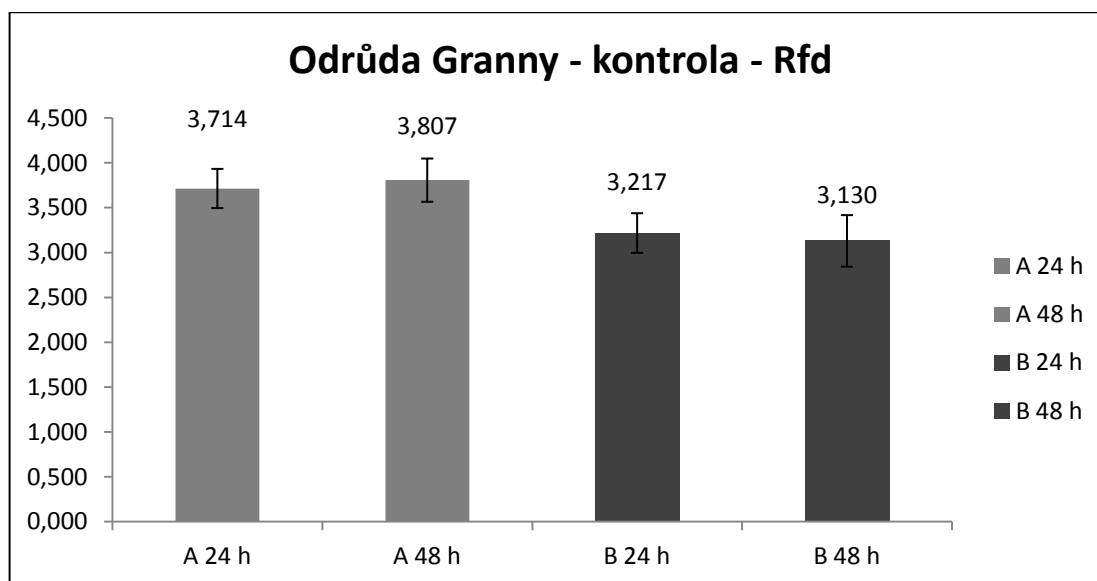
Rozdíly při různých intenzitách světla				
Granny (C)	24 h	48 h	24 h v %	48 h v %
Fv/Fm	-0,012	-0,012	-1,43	-1,44
Rfd	-0,497	-0,677	-13,38	-17,78

Tab. 12: Rozdíly hodnot parametrů F_v/F_m a R_{fd} při stejném typu osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách.

Rozdíly při stejných intenzitách světla po 48 h oproti 24 h		
Granny (C)	normální světlo	intenzita 900 μE
F_v/F_m	-0,005	-0,001
R_{fd}	0,093	-0,087
F_v/F_m v %	-0,596	-0,605
R_{fd} v %	2,504	-2,704



Graf 9: Porovnání hodnot parametru F_v/F_m u odrůdy Granny (kontrola) po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách při použití přirozeného světla a vysoké intenzity osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μE .



Graf 10: Porovnání hodnot parametru R_{fd} u odrůdy Granny (kontrola) po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách při použití přirozeného světla a vysoké intenzity osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μE .

3.5 Odrůda Granny - kontaminovaná varianta

Oba sledované parametry u varianty kontaminované NaCl se zvýšily po čtyřiceti osmi hodinách oproti stavu po dvaceti čtyřech hodinách při obou použitých intenzitách světla (viz Tab. 13 a 14, Graf 11 a 12). Rozdíly hodnot parametrů po čtyřiceti osmi hodinách vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách při stejné intenzitě světla je popsán v Tab. 16. Parametr Fv/Fm se nepatrně více zvýšil při měření za přirozeného světla - o 2,1% vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách. Index vitality se zvýšil téměř stejně při obou intenzitách, ale při normálním světle opět trochu více, než při vysoké intenzitě osvětlení. Při obou intenzitách osvětlení se parametr Rfd zvýšil o více než 5% po čtyřiceti osmi hodinách vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách při stejné intenzitě světla.

Jak u parametru Fv/Fm, tak u indexu vitality se snížily hodnoty v daném čase při použití vysoké intenzity světla oproti měření při přirozeném světle. Pokles hodnoty parametru Rfd činil po dvaceti čtyřech hodinách 17,6% oproti měření na přirozeném světle a po čtyřiceti osmi hodinách byla hodnota stále nižší o 17,9% vůči hodnotě naměřené ve stejnou dobu při přirozeném světle. Parametr Fv/Fm byl naměřen nižší o 1,8% po dvaceti čtyřech hodinách a po čtyřiceti osmi hodinách o 2% oproti měření na přirozeném světle (viz Tab. 15).

Tab. 13: Průměrné hodnoty parametrů Fv/Fm a Rfd se směrodatnými odchylkami po dvaceti čtyřech hodinách a čtyřiceti osmi hodinách za normálního osvětlení.

Granny (S) - normální světlo						
		Fv/Fm	Rfd		Fv/Fm	Rfd
Průměr	24 h	0,839	3,714	48 h	0,834	3,807
Směrodatná odchylka		0,006	0,218		0,010	0,241

Tab. 14: Průměrné hodnoty parametrů Fv/Fm a Rfd se směrodatnými odchylkami po dvaceti čtyřech hodinách a čtyřiceti osmi hodinách při osvětlení 900 μ E.

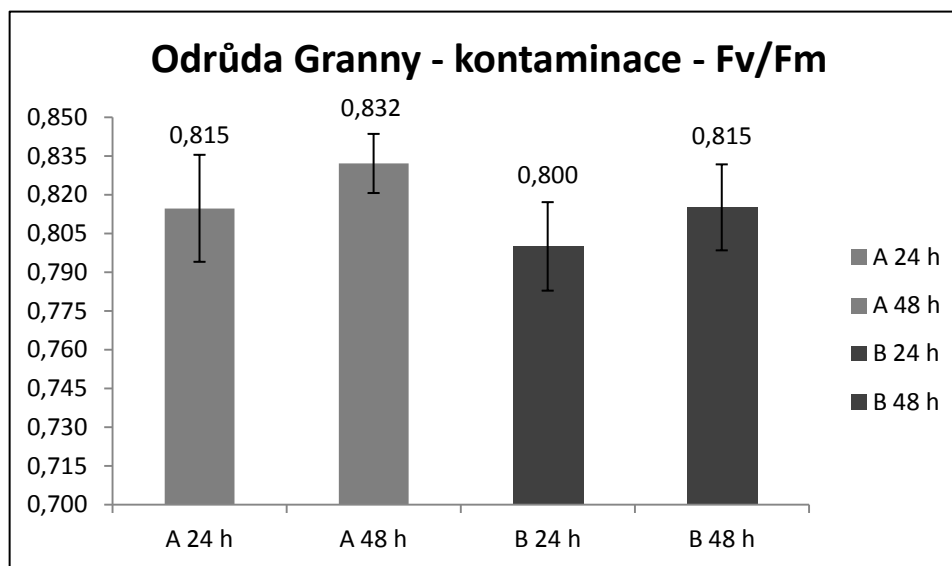
Granny (S) - normální světlo						
		Fv/Fm	Rfd		Fv/Fm	Rfd
Průměr	24 h	0,800	3,023	48 h	0,815	3,178
Směrodatná odchylka		0,017	0,338		0,017	0,184

Tab. 15: Rozdíly hodnot parametrů Fv/Fm a Rfd ve stejném čase při různých intenzitách osvětlení. Rozdíl je vždy uváděn jako hodnota při porovnání vyšší intenzity světla oproti normální.

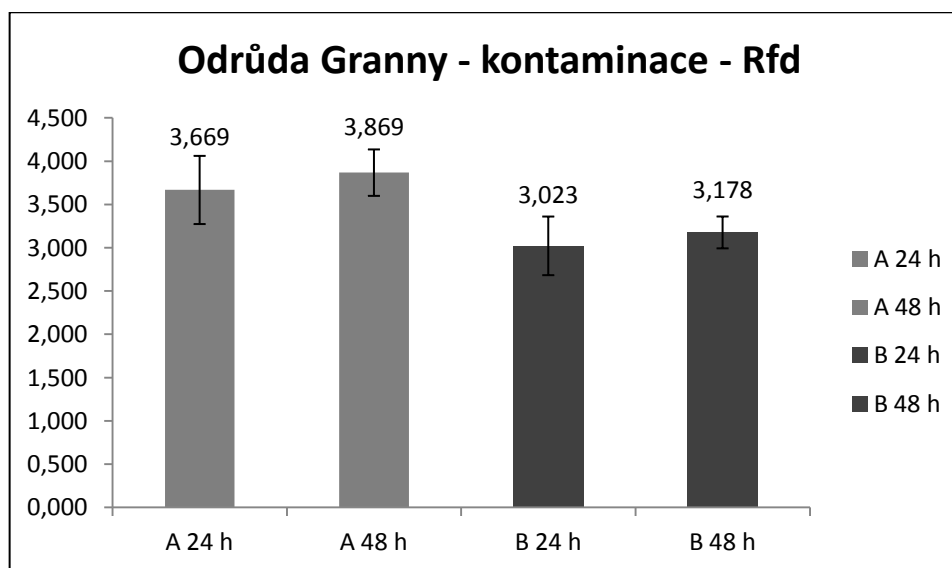
Rozdíly při různých intenzitách světla				
Granny (S)	24 h	48 h	24 h v %	48 h v %
Fv/Fm	-0,015	-0,017	-1,84	-2,04
Rfd	-0,646	-0,690	-17,61	-17,86

Tab. 16: Rozdíly hodnot parametrů F_v/F_m a R_{fd} při stejném typu osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách.

Rozdíly při stejných intenzitách světla po 48 h oproti 24 h		
Granny (C)	normální světlo	intenzita 900 μ E
F_v/F_m	0,017	0,015
R_{fd}	0,200	0,155
F_v/F_m v %	2,086	1,875
R_{fd} v %	5,451	5,127



Graf 11: Porovnání hodnot parametru F_v/F_m u odrůdy Granny (kontaminace) po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách při použití přirozeného světla a vysoké intenzity osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E.

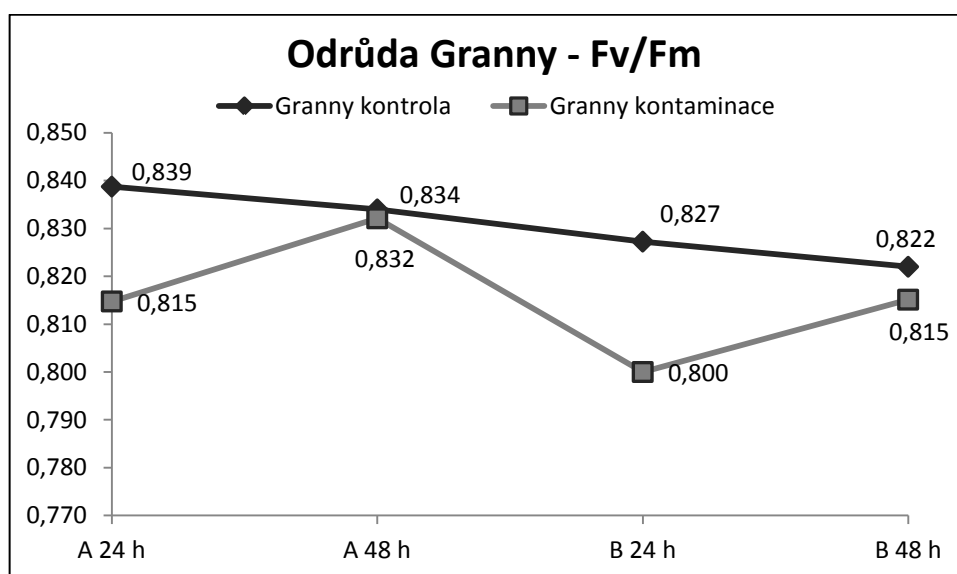


Graf 12: Porovnání hodnot parametru R_{fd} u odrůdy Granny (kontaminace) po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách při použití přirozeného světla a vysoké intenzity osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E.

3.6 Odrůda Granny - porovnání kontrolní a kontaminované varianty

Odrůda Granny má hodnoty parametru Fv/Fm v daném čase vždy nižší z měření kontaminované varianty, než z kontrolního měření. Kontrolní varianta však odrůdy Granny vykazuje v průběhu změn hodnot parametru Fv/Fm podobně klesající tendenci jako varianta odrůdy Seance kontaminovaná chloridem sodným. Pokles u Granny je však mnohem mírnější oproti Seance, hodnota Fv/Fm kontrolní varianty odrůdy Granny v průběhu celého měření klesne o 0,017, zatímco u kontaminované varianty odrůdy Seance o 0,030, což je téměř dvojnásobně strmý pád hodnot (viz Graf 7 a 13).

U kontaminované varianty odrůdy Granny je velmi dobře patrné zvýšení hodnoty parametru Fv/Fm po čtyřiceti osmi hodinách za přirozeného světla vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách, zatímco u kontroly došlo k velmi mírnému poklesu. Stejný průběh změn je zaznamenán i přeměření za vysoké intenzity světla (viz Graf 13). Parametr Fv/Fm u kontaminované varianty dosáhl po čtyřiceti osmi hodinách za vysoké intenzity světla stejné hodnoty jako po dvaceti čtyřech hodinách za přirozeného světla.

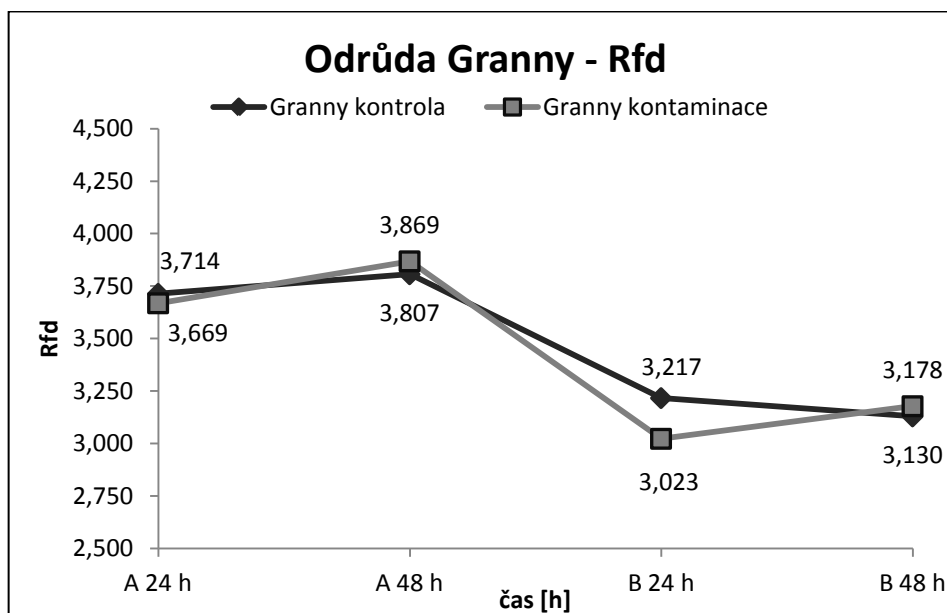


Graf 13: Porovnání hodnot parametru Fv/Fm odrůdy Granny - kontaminovaná varianta s kontrolou po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách a za různých intenzit osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E.

Hodnoty parametru Rfd v počátku měření za přirozeného světla byly u kontaminované i u kontrolní varianty velmi podobné, kontrolní však byla vyšší o 0,045 (viz Graf 14). Po čtyřiceti osmi hodinách došlo k mírnému nárůstu parametru u obou variant, ale vyšší hodnota (pouze o 0,062) byla v tuto dobu naměřena u varianty stresované zasolením.

Při měření za vysoké intenzity osvětlení hodnoty parametru Rfd u obou variant velmi výrazně poklesly. Kontrolní varianta klesla o 13,4% při měření po dvaceti

čtyřech hodinách a po čtyřiceti osmi hodinách klesla o 17,8% oproti měření za přirozeného osvětlení. Hodnota parametru Rfd u varianty kontaminované zasolením klesla po dvaceti čtyřech hodinách o 12,3% a po čtyřiceti osmi hodinách o 17,9%.



Graf 14: Porovnání hodnot parametru Rfd odrůdy Granny - kontaminovaná varianta s kontrolou po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách a za různých intenzit osvětlení. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 µE.

3.7 Porovnání odrůd Seance a Granny

Dle hodnot parametru Fv/Fm (viz Graf 15 a 16) vykazuje nejlepší zdravotní stav, tedy největší odolnost, kontrolní varianta odrůdy Granny, a to jak za přirozeného světla, tak za vysoké intenzity světla. Kontrolní varianta Seance má hodnotu parametru Fv/Fm oproti ní vždy nižší, avšak na rozdíl od kontrolní varianty Granny, která po čtyřiceti osmi hodinách poklesla při obou intenzitách světla, tak hodnota Fv/Fm kontrolní varianty odrůdy Seance po čtyřiceti osmi hodinách vždy vzrostla.

Kontaminované varianty odrůdy Granny a Seance mají při měření na přirozeném světle opačný průběh změn hodnot. Hodnota parametru Fv/Fm varianty stresované zasolením u odrůdy Granny se po čtyřiceti osmi hodinách zvýšila o 0,007 (2,1%), zatímco u stresované varianty odrůdy Seance naopak poklesla o 0,005 (1,3%).

Při měření za vysoké intenzity osvětlení byla po dvaceti čtyřech hodinách nejsilněji ovlivněna kontrolní varianta odrůdy Seance a po čtyřiceti osmi hodinách kontaminovaná varianta odrůdy Seance. Všechny varianty až na kontaminovanou variantu odrůdy Seance po čtyřiceti osmi hodinách měly zvýšený parametr Fv/Fm oproti stavu po dvaceti čtyřech hodinách.

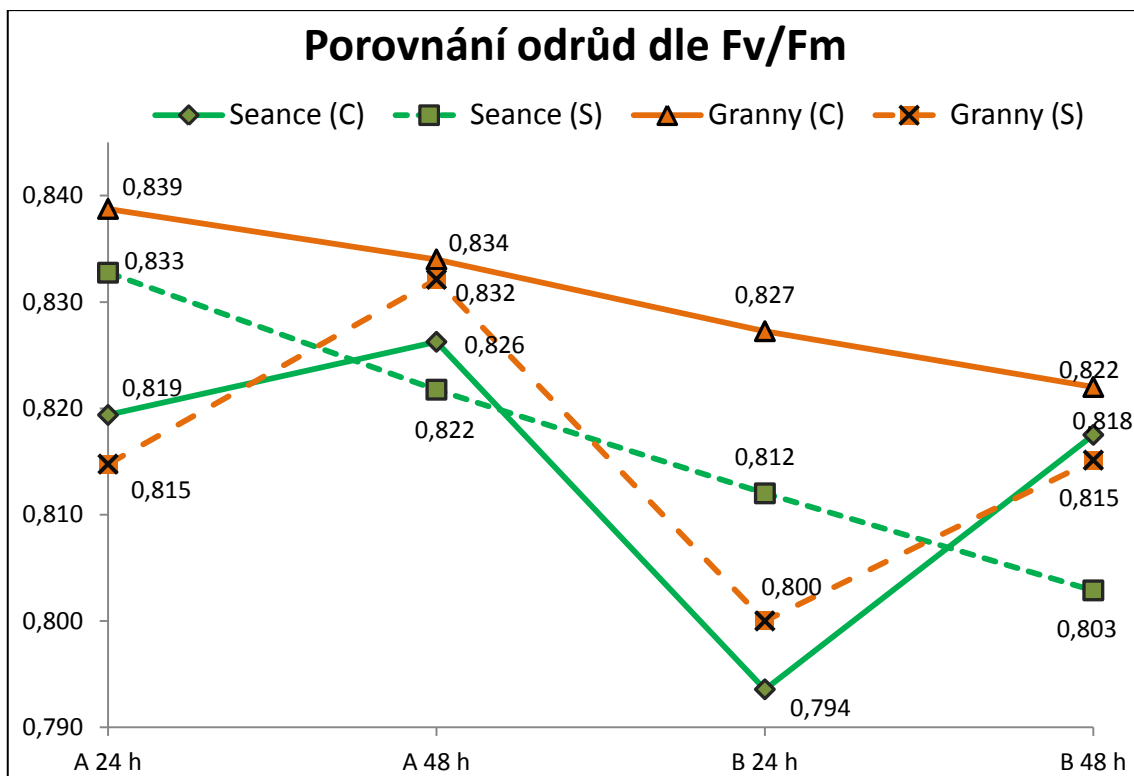
Hodnoty parametru Rfd (viz Graf 17) velmi jasně ukazují na rozdíly v obou variantách. Odrůda Granny má index vitality vždy vyšší oproti odrůdě Seance. Za přirozeného světla má nejnižší hodnotu kontrolní varianta odrůdy Seance po dvaceti čtyřech i čtyřiceti osmi hodinách.

U odrůdy Seance kontrolní varianta i varianta stresovaná zasolením reagovaly za přirozeného světla v podstatě stejně, oběma se parametr Rfd po čtyřiceti osmi hodinách zvýšil vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách o 7%. U odrůdy Granny se za přirozeného osvětlení parametr Rfd u kontrolní i stresované varianty také zvýšil, avšak varianta kontaminovaná chloridem sodným měla podstatně větší zvýšení hodnoty (o 5,5%), než kontrolní varianta (o 2,5%).

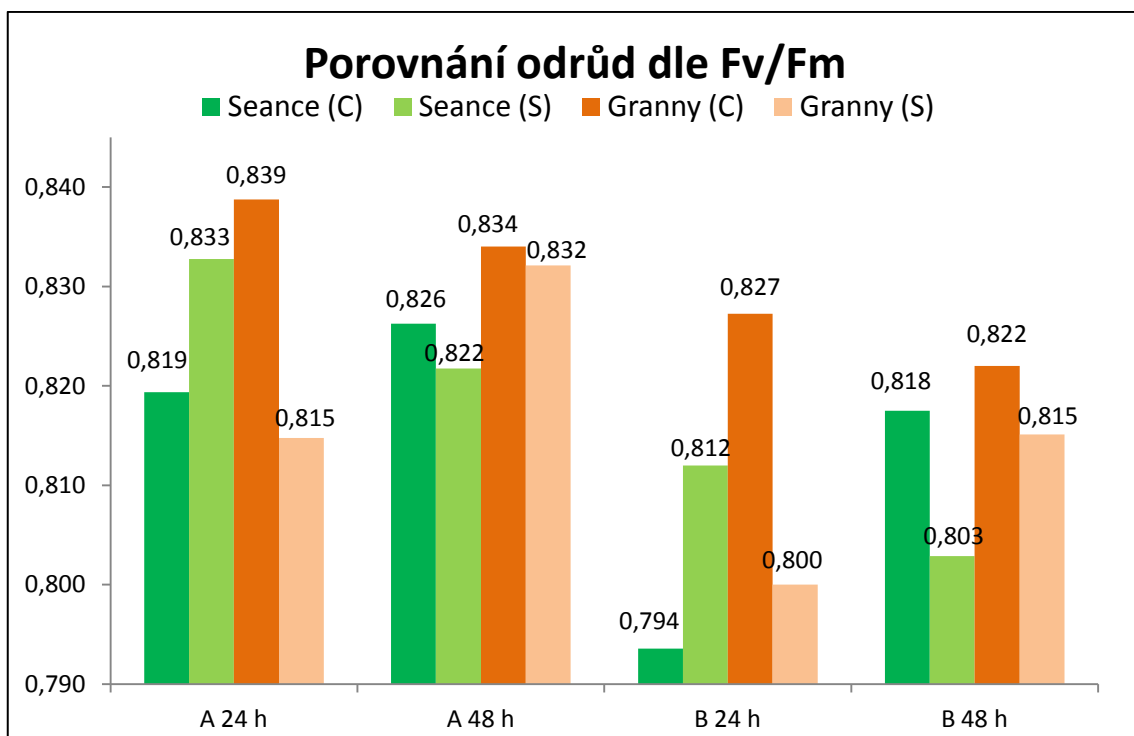
Při měření za vysoké intenzity světla reagovala nejvíce varianta odrůdy Seance stresovaná zasolením. Oproti měření za přirozeného světla se hodnota Rfd propadla o 16,7%. Kontaminovaná varianta odrůdy Granny se také velmi výrazně snížila (o 17,6%), avšak na rozdíl od odrůdy Seance v žádném bodě měření nedošlo ke snížení pod hodnotu 3,0.

Stresované varianty obou porovnávaných odrůd vykazují mírné zvýšení hodnot parametru Rfd po čtyřiceti osmi hodinách při měření za použití vysoké intenzity světla. Hodnota Rfd se u kontaminované varianty odrůdy Granny zvýšila o 5% a u Seance o 3,4%. Kontrolní varianta odrůdy Granny za vysoké intenzity světla se po čtyřiceti osmi hodinách snížila o 2,7 %, zatímco hodnota kontrolní varianty odrůdy Seance se o téměř 8% zvýšila.

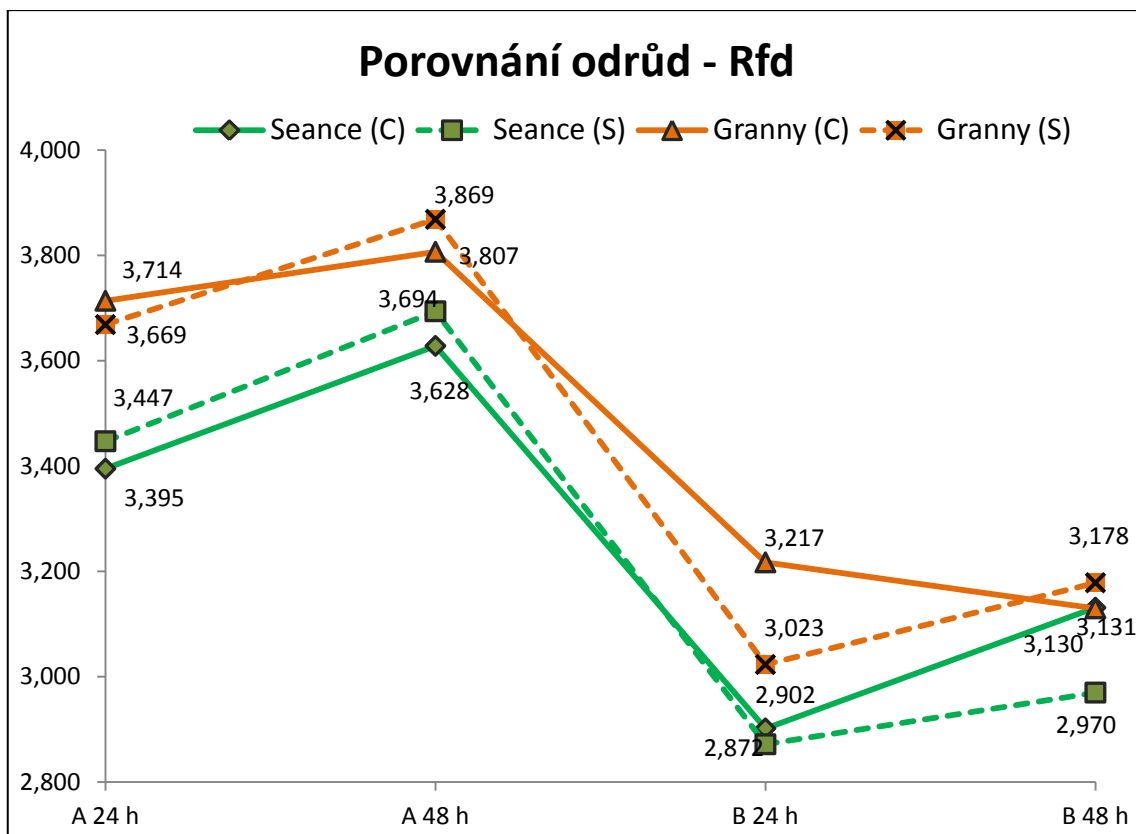
U varianty Seance při měření za vysoké intenzity světla byl zaznamenán pokles hodnot parametru Rfd po dvaceti čtyřech hodinách pod hodnotu 3,0. Kontrolní variantě se po čtyřiceti osmi hodinách parametr zvýšil nad tuto hraniční hodnotu, ale u kontaminované varianty i po čtyřiceti osmi hodinách zůstala hodnota těsně pod touto hranicí (viz Graf 17 a 18).



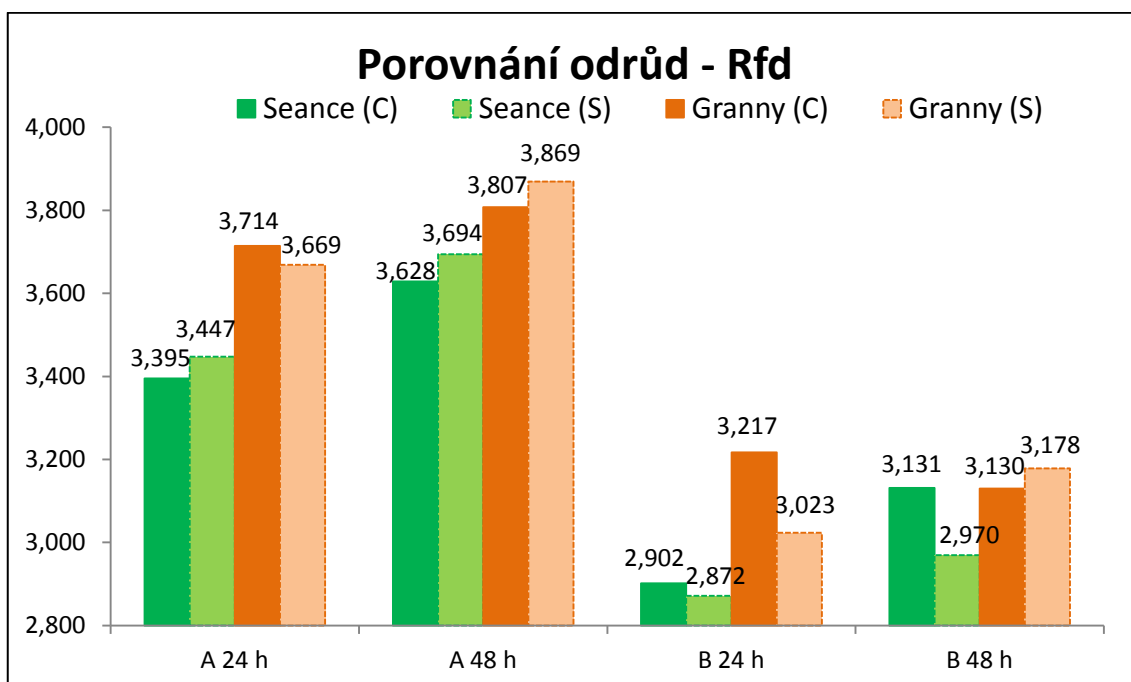
Graf 15: Spojnicový graf: Porovnání hodnot parametru Fv/Fm obou testovaných odrůd a všech jejich variant. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E, plné čáry - kontrola, přerušované čáry - varianty kontaminované chloridem sodným.



Graf 16: Sloupcový graf: Porovnání hodnot parametru Fv/Fm obou testovaných odrůd a všech jejich variant. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E, zelená barva - Seance, oranžová barva - Granny.



Graf 17: Spojnicový graf: Porovnání hodnot parametru Rfd obou testovaných odrůd a všech jejich variant. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E, plné čáry - kontrola, přerušované čáry - varianty kontaminované chloridem sodným.



Graf 18: Sloupcový graf: Porovnání hodnot parametru Rfd obou testovaných odrůd a všech jejich variant. A - přirozené světlo, B - intenzita světla 900 μ E, zelená barva - Seance, oranžová barva - Granny.

4 Diskuze

Zdravá rostlina by měla mít parametr F_v/F_m zhruba na hodnotě 0,830, ačkoliv se uvádí v literatuře i mnohem širší rozpětí 0,750 - 0,840. Parametr R_{fd} by měl být vyšší než 3,0. Při snížení parametrů pod tyto hodnoty lze říci, že na rostlinu působí silný stres (Lichtenthaler et al., 2004).

Odrůda Seance měla v experimentu vyšší hodnotu parametru F_v/F_m po dvaceti čtyřech hodinách za přirozeného světla u varianty kontaminované chloridem sodným, ačkoliv by vyšší hodnotu měla mít varianta kontrolní. Chlorid sodný měl pravděpodobně po dvaceti čtyřech hodinách u odrůdy Seance velmi malý vliv (viz graf 7) a rostliny byly před přidáním NaCl v lepším zdravotním stavu, než ty použité jako kontrolní. Některé rostliny u kontroly mohly být například poškozeny při přesazování z vatové substance, nebo mohlo dojít k poškození některých listů při nandávání klipsů v zatemňovací fázi.

Po čtyřiceti osmi hodinách již je hodnota parametru F_v/F_m za přirozeného světla u odrůdy Seance vyšší u kontrolní varianty, kde došlo oproti stavu po dvaceti čtyřech hodinách ke zvýšení hodnoty. Variantě kontaminované NaCl se naopak zdravotní stav podle snížení parametru F_v/F_m po čtyřiceti osmi hodinách mírně zhoršil, což by mohlo znamenat, že chlorid sodný již zapůsobil.

Při porovnání s optimální hodnotou 0,830 však žádný z naměřených údajů u odrůdy Seance, až na kontrolní variantu po dvaceti čtyřech hodinách, není výrazně nižší. Analýzou parametru F_v/F_m u odrůdy Seance tedy nebyl zjištěn téměř žádný vliv chloridu sodného po dvaceti čtyřech, ani po čtyřiceti osmi hodinách.

Hodnota parametru R_{fd} je za přirozeného světla u odrůdy Seance opět mírně vyšší u kontaminované varianty, ačkoliv by měla být vyšší u kontroly. Hodnoty R_{fd} po dvaceti čtyřech hodinách jsou u obou variant poměrně vysoké vůči hraniční hodnotě 3,0. Po čtyřiceti osmi hodinách došlo u obou variant dokonce ještě ke zvýšení hodnoty, tudíž ani tento parametr neukazuje, že by chlorid sodný měl v době měření na rostliny vliv.

Změny v parametru F_v/F_m se často vyjeví až po mnohem delší době než u parametru R_{fd} . Je tedy možné, že snížení hodnoty F_v/F_m u kontaminované varianty po čtyřiceti osmi hodinách za přirozeného světla je způsobeno vlivem NaCl, avšak rozdíl hodnot vůči stavu po dvaceti čtyřech hodinách je velmi malý.

Perveen et al. (2013) použil stejnou koncentraci chloridu sodného na dva kultivary pšenice, jako byla v experimentu bakalářské práce, avšak dávky byly rozděleny do více dní po 50 mM, než bylo dosaženo 150 mM NaCl a byly použity mnohem vyšší intenzity světla pro saturační pulz i aktinické světlo. Jeden kultivar byl tolerantní a druhý mírně senzitivní vůči zasolení. Perveen et al. (2013) stejně tak, jako v našem experimentu, nezaznamenal žádný výrazný rozdíl v hodnotách parametru F_v/F_m .

Analýzou parametru ETR však zjistil, že kultivar tolerantní k zasolení má hodnotu ETR vyšší, než kultivar na zasolení senzitivní a oběma kultivarům pod působením chloridu sodného hodnota klesla.

Plazek et al. (2015) uvádí, že prahová hodnota působení stresu ze zasolení je přibližně 40 mM NaCl, jako mírný stres už označují působení koncentrace 50 - 100 mM. Koncentrace 150 mM NaCl použitá v našem experimentu by měla tedy způsobovat alespoň mírný stres u obou odrůd pšenice seté. Při pokusu v práci Plazek et al. (2015) se změny F_v/F_m pohybovaly pouze v řádu tisícín až setin, zhruba od 0,820 do 0,850, tedy v podobném rozpětí hodnot jako v pokusu k bakalářské práci.

Pro ověření tvrzení, že koncentrace 150 mM chloridu sodného při dávce 200 ml nemá na odrůdu Seance žádný vliv, by bylo potřeba provést měření ihned po přidání chloridu sodného v intervalech například po třech hodinách. Je velmi pravděpodobné, že odrůda Seance pouze dokázala během prvního dne překlenout účinky chloridu sodného po jeho jednorázovém přidání. Pro měření pouze po dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách by bylo účinnější použít vyšší koncentraci chloridu sodného. Vliv NaCl v uvedených časových intervalech by též šlo vyvrátit či potvrdit analýzou parametru ETR.

Odrůda Granny již má po dvaceti čtyřech hodinách nižší hodnotu parametru F_v/F_m u varianty kontaminované zasolením vůči variantě kontrolní. Na rozdíl od odrůdy Seance však dochází za přirozeného světla k velmi výraznému zvýšení parametru F_v/F_m kontaminované varianty o 2,1% po čtyřiceti osmi hodinách (viz graf 13).

Dle parametru Rfd se stav kontrolní varianty odrůdy Granny po čtyřiceti osmi hodinách za přirozeného světla téměř nezměnil, došlo pouze k mírnému nárůstu hodnoty Rfd, a parametr F_v/F_m poklesl pouze o zanedbatelné půl procento. Variantě odrůdy Granny stresované zasolením se stejně jako parametr F_v/F_m zvýšil po čtyřiceti osmi hodinách i parametr Rfd, což potvrzuje, že po čtyřiceti osmi hodinách již chlorid sodný přestal působit nebo byly účinky velmi redukovány.

Při pohledu na hodnoty parametru Rfd u odrůdy Granny nelze tvrdit, že by byly rostliny pod vlivem stresu. Zde bychom pravděpodobně působení chloridu sodného zjistili během prvních hodin měření, jak naznačuje snížená hodnota parametru F_v/F_m po dvaceti čtyřech hodinách od přidání chloridu sodného.

Při porovnání odrůd mezi sebou parametr F_v/F_m naznačuje, že nejsilnější vliv měl chlorid sodný za přirozeného osvětlení na odrůdu Granny po dvaceti čtyřech hodinách (viz graf 15). U odrůdy Granny však došlo po čtyřiceti osmi hodinách u kontaminované varianty ke zvýšení hodnoty F_v/F_m , zatímco u odrůdy Seance naopak došlo k jejímu poklesu. Tento rozdíl by mohl znamenat vyšší odolnost vůči zasolení u odrůdy Seance oproti odrůdě Granny při počátku působení NaCl, avšak

ukazuje také, že odrůdě Seance trvá déle se s účinky soli vyrovnat (viz graf 15). Vysoké hodnoty parametru Rfd (viz graf 17) však ukazují spíše na celkovou neúčinnost chloridu sodného po dvaceti čtyřech hodinách a více při dávce 200 ml o koncentraci 150 mM. Odrůdě Granny byl parametr Rfd naměřen jednoznačně vyšší u obou variant, čímž vyvrací možnost, že by odrůda Granny měla nižší odolnost vůči zasolení v začátcích působení, jak naznačuje parametr Fv/Fm.

Ačkoliv změny v hodnotách parametru Fv/Fm našeho experimentu nejsou příliš velké, lze z nich usoudit, že použití vysoké intenzity světla způsobilo pokles hodnot po dvaceti čtyřech i čtyřiceti osmi hodinách (oproti měření za přirozeného světla) u všech variant obou odrůd. Závěr, že vysoká intenzita světla snižuje hodnotu parametru Fv/Fm se shoduje i s tvrzením v článku *Studying photosynthesis by measuring fluorescence* (Sanchez et Quiles, 2006). Tentýž trend lze sledovat i na hodnotách parametru Rfd při použití vysoké intenzity světla.

Janka et al. (2015) zaznamenali při pokusu s různou světelnou intenzitou a teplotou kontinuální pokles hodnot parametru Fv/Fm se zvyšující se teplotou. V našem experimentu nebyla měřena teplota, ale byla použita vysoká intenzita záření. U kontrolní varianty (Janka et al., 2015) při intenzitě $171 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ byla naměřena hodnota Fv/Fm 0,850, při intenzitě $667 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ byla hodnota podstatně nižší (0,805), došlo tedy k poklesu parametru vlivem vysokého ozáření, stejně jako ve výsledcích bakalářské práce po dvaceti čtyřech hodinách (viz graf 15 a 16). Při použití intenzity světla $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ byly hodnoty parametru Fv/Fm v našem experimentu naměřeny v rozmezí 0,794 - 0,827.

Velmi vysoké rozdíly byly naměřeny mezi hodnotami při použití vysoké intenzity osvětlení a přirozeného světla (viz graf 17 a 18). Varianty obou odrůd kontaminované chloridem sodným vyšly z měření po dvaceti čtyřech hodinách i čtyřiceti osmi hodinách jako nejvíce ovlivněné vysokou intenzitou světla, pakliže nebereme v potaz kontrolní variantu odrůdy Seance, kde pravděpodobně došlo k poškození rostlin manipulací při měření. Lze tedy usoudit, že vysoká intenzita světla působí v součinnosti spolu s chloridem sodným, což je viditelné při porovnání kontrol a kontaminovaných variant v grafu 17 po dvaceti čtyřech hodinách u odrůdy Granny a po čtyřiceti osmi hodinách u odrůdy Seance.

Odrůda Seance reagovala při vysoké intenzitě světla podstatně větším snížením hodnot parametru Fv/Fm i Rfd než odrůda Granny (viz graf 16 a 17). Všechny varianty obou odrůd měly dle parametru Rfd po čtyřiceti osmi hodinách lepší zdravotní stav, než po dvaceti čtyřech hodinách (viz graf 18). Do budoucna by bylo užitečné potvrdit dalšími experimenty, zda je odrůda Seance více náchylná k ovlivnění vysokou intenzitou světla, jak naznačují parametry Fv/Fm i Rfd.

Závěr

Účinky chloridu sodného o koncentraci 150 mM při dávce 200 ml na odrůdách pšenice seté Granny a Seance nebyly po dvaceti čtyřech, ani po čtyřiceti osmi hodinách pomocí parametrů fluorescence chlorofylu F_v/F_m a Rfd prokázány. Pouze parametr F_v/F_m naznačuje z dat při měření po dvaceti čtyřech hodinách, že odrůda Seance by mohla mít vyšší odolnost vůči zasolení oproti odrůdě Granny.

Vliv chloridu sodného měřený na pšenici seté pomocí fluorescence chlorofylu v navazujících experimentech by bylo vhodné zaznamenat také během prvních hodin od přidání NaCl, což nebylo možné během tohoto experimentu provést vzhledem k počtu variant a opakování.

Ozáření obou odrůd pšenice seté vysokou intenzitou světla se projevilo výrazným snížením sledovaných parametrů fluorescence chlorofylu. Vysoká intenzita světla způsobovala oběma sledovaným odrůdám po dvaceti čtyřech hodinách velmi silný stres. Nejvíce ovlivněny byly varianty kontaminované chloridem sodným změřené po dvaceti čtyřech hodinách. U obou odrůd došlo po čtyřiceti osmi hodinách ke zlepšení zdravotního stavu, nebo zůstal alespoň stejný jako při měření po dvaceti čtyřech hodinách.

Metoda indukované fluorescence je velmi užitečným nástrojem pro rozpoznání vlivu stresu, avšak je vhodné kombinovat toto měření s dalšími metodami.

Seznam použité literatury

- 1 Ananyev G. et al. (2005). Remote sensing of heterogeneity in photosynthetic efficiency, electron transport and dissipation of excess light in *Populus deltoides* stands under ambient and elevated CO₂ concentrations, and in a tropical forest canopy, using a new laser-induced fluorescence transient device. *Global Change Biology* 11: 1195-1206.
- 2 Ashraf M. et Harris P. J. C. (2013). Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica* 51 (2): 163-190.
- 3 Barták M. (2011). Indikace dopadů stresu na vitalitu in-vitro kultivovaných rostlin pomocí pokročilých metod fluorescence chlorofylu. In Barták, M., Hájek, J., Dubová, J.. *Rostlinné biotechnologie*. Brno: Masarykova univerzita. ISBN 978-80-210-5887-3. Dostupné online z [www](http://www.muni.cz/research/publications/1070681): <<http://www.muni.cz/research/publications/1070681>>.
- 4 Bláha L. et al. (2003). *Rostlina a stres*. Praha: VÚVŘV. ISBN 80-86555-32-1.
- 5 Boamah P. O. et al. (2011). Effect of Irrigation Interval on Chlorophyll Fluorescence of Tomatoes under Sprinkler. *Asian Journal of Agricultural Research* 5 (1): 83-89.
- 6 E. Janka et al. (2015). Using the quantum yields of photosystem II and the rate of net photosynthesis to monitor high irradiance and temperature stress in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). *Plant Physiology and Biochemistry* 90: 14-22.
- 7 Freedman A. et al. (2002). Remote sensing of solar-excited plant fluorescence as a measure of photosynthetic rate. *Photosynthetica* 40: 127-132.
- 8 Gogoláková A. et Štrba P. (2011). Identifikácia stresu rastlín napadnutých škodcami pomocou fluorescence chlorofylu. In: *Vliv Abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2011 (Sborník recenzovaných příspěvků)*. Praha: VÚVŘV. ISBN 978-80-7427-068-0.
- 9 Gollmack D. et al. (2014). Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. *Frontiers in Plant Science* (5) 151.
- 10 Gururani M. A., Venkatesh J. et Tran L. - S.P. (2015). Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Molecular Plant*.
- 11 Horgan D. B. et Zabkiewicz J. A. (2008). Fluorescence decline ratio: Comparison with quantum yield ratio for plant physiological status and herbicide treatment responses fluorescence decline ratio: comparison with quantum yield ratio for plant physiological status and herbicide treatment responses. *New Zealand Plant Protection* 61: 169-173.

- 12 Jenks M. A. et Hasegawa P. M. eds. (2007). *Plant Abiotic Stress*. *Experimental Agriculture* 43 (2): pp 270. ISBN 1-4051-2238-2.
- 13 Jones H. G., Flowers T. J., Jones M. B. eds. (1989). *Plants under stress: Biochemistry, Physiology and Ecology and their Application to Plant Improvement*. New York: Cambridge University Press. pp 257. ISBN 978-0-521-05037-1.
- 14 Kooten O. et Snel J. (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress. *Kluwer Academic Publishers. Photosynthesis Research* 25: 147-150.
- 15 Kosova K. et al. (2015). Responses of two barley cultivars differing in their salt tolerance to moderate and high salinities and subsequent recovery. *Biologia Plantarum* 59 (1): 106-114.
- 16 Lichtenthaler H. K. et al. (1986). Application of chlorophyll fluorescence in ecophysiology. *Radiant Environ Biophys* 25: 297-308.
- 17 Lichtenthaler H. K., Buschmann C., et Knapp M. (2005). How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{Fd} of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica* 43 (3): 379-393.
- 18 Lichtenthaler H. K., Buschmann C., Knapp M. (2004). Measurement of chlorophyll fluorescence kinetics (Kautsky effect) and the chlorophyll fluorescence decrease ratio (R_{Fd}-values) with the PAM-Fluorometer. In: *Analytical Methods in Plant Stress Biology*, The Franciszek Gorski Institute of Plant Physiology of the Polish Academy of Sciences, Pages: 93-111.
- 19 Madhava Rao K. V., Raghavendra A. S., et Janardhan Reddy K. eds. (2006). *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer. pp 345. ISBN 1-4020-4224-8.
- 20 Maxwell K. et Johnson G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51 (345): 659-668.
- 21 Nield J. (1995-2015). Investigating macromolecular structures [online]. [cit. 3. 7. 2015]. Dostupne z WWW: <http://macromol.sbcs.qmul.ac.uk/resources/AllComplexes_25Nov2011_1800px.gif>.
- 22 Papageorgiou G. C. et Govindjee (2004). Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. *Advances in photosynthesis and respiration*. Springer 19.
- 23 Perveen S., Shahbaz M. et Ashraf M. (2013). Influence of foliar-applied triacontanol on growth, gas exchange characteristics, and chlorophyll

- fluorescence at different growth stages in wheat under saline conditions. *Photosynthetica* 51 (4): 541-551.
- 24 Płazek et al. (2013). Investigation of the salt tolerance of new Polish bread and durum wheat cultivars. *Acta Physiol Plant* 35:2513-2523.
 - 25 Ritchie G. A. (2006). Chlorophyll fluorescence: What is it and what do the numbers mean? *Forest service proceeding* 43: 34-43.
 - 26 Roháček K. et Barták M. (1999). Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetica* 37: 339-363.
 - 27 Roháček K., Soukupová J., Barták M. (2008). Chlorophyll fluorescence: A wonderful tool to study plant physiology and plant stress. In: *Plant Cell Compartments - Selected Topics*. Research Singpost 37/661 (2): 41 - 404. ISBN 978-81-308-0104-9.
 - 28 Salvatori E. et al. (2014). Plant stress analysis: Application of prompt, delayed chlorophyll fluorescence and 820 nm modulated reflectance. Insights from independent experiments. *Plant Physiology and Biochemistry* 85: 105-113. Dostupné online v databázi Science Direct.
 - 29 Sanchez J. F. et Quiles M. J. (2006). Studying photosynthesis by measuring fluorescence. *Journal of Biological Education* 41: 34-37.
 - 30 Schreiber U. et al. (1996). Measurement of chlorophyll fluorescence within leaves using a modified PAM Fluorometer with a fiber-optic microporobe. Kluwer Academic Publishers. *Photosynthesis Research* 47: 103-109.
 - 31 Soukupová J. et al. (2008). Annual variation of the steady-state chlorophyll fluorescence emission of evergreen plants in temperate zone. *Functional Plant Biology* 35: 63-76.
 - 32 Soukupová J. et Roháček K. (2003). Fluorescence, fotosyntéza a stress: Jak to spolu souvisí? In *Sborník Projekt otevřená věda, praktický kurz biologie*. Praha: KAV ČR: 55-68.
 - 33 Taiz L. et Zeiger E. (2006). *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc., underland, Massachusetts.
 - 34 Tester M. et Davenport R. (2003). Na⁺ Tolerance and Na⁺ Transport in Higher Plants. *Annals of Botany* 91: 503-527.
 - 35 Ulrich D. et al. (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in Plant Science* 19 (6): 373-379.

- 36 Zarco-Tejada P. J. et al. (2000). Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent reflectance: II. Laboratory and airborne canopy-level measurements with hyperspectral data. *Remote Sensing of Environment* 74: 596-608.

Příloha

Tab. 17: Data z fluorescenčního měření varianty Seance C1 za normálního osvětlení po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Seance C1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	131	700	569	0,813	674	151	523	0,776	172	3,070
list č. 2	133	675	542	0,803	648	153	495	0,764	160	3,219
list č. 3	137	753	616	0,818	718	162	556	0,774	168	3,482
list č. 4	133	730	597	0,818	697	156	541	0,776	172	3,244
Průměr	133,50	714,50	581,00	0,813	684,25	155,50	528,75	0,773	168,00	3,254
Směrodatná odchylka	2,517	34,122	32,383	0,007	30,115	4,796	26,235	0,006	5,657	0,171

Tab. 18: Data z fluorescenčního měření varianty Seance C1 za normálního osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Seance C1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	139	815	676	0,829	766	158	608	0,794	183	3,454
list č. 2	148	779	631	0,810	739	176	563	0,762	156	3,994
list č. 3	120	719	599	0,833	672	138	534	0,795	154	3,669
list č. 4	135	783	648	0,828	737	158	579	0,786	173	3,526
Průměr	135,50	774,00	638,50	0,825	728,50	157,50	571,00	0,784	166,50	3,660
Směrodatná odchylka	11,676	40,050	32,213	0,010	39,921	15,524	30,908	0,015	13,916	0,239

Tab. 19: Data z fluorescenčního měření varianty Seance C1 při osvětlení 900 μE po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Seance C1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	148	619	471	0,761	637	157	480	0,754	159	2,893
list č. 2	136	579	443	0,765	575	150	425	0,739	162	2,574
list č. 3	112	654	542	0,829	632	136	496	0,785	157	3,166
Průměr	132,00	617,33	485,33	0,785	614,67	147,67	467,00	0,759	159,33	2,878
Směrodatná odchylka	18,330	37,528	51,033	0,038	34,443	10,693	37,242	0,023	2,517	0,296

Tab. 20: Data z fluorescenčního měření varianty Seance C1 při osvětlení 900 μE po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Seance C1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	117	667	550	0,825	656	133	523	0,797	161	3,143
list č. 2	113	598	485	0,811	585	127	458	0,783	146	3,096
list č. 3	115	712	597	0,838	680	133	547	0,804	171	3,164
list č. 4	142	812	670	0,825	774	165	609	0,787	193	3,207
Průměr	121,75	697,25	575,50	0,825	673,75	139,50	534,25	0,793	167,75	3,152
Směrodatná odchylka	13,598	89,723	77,959	0,011	78,061	17,234	62,425	0,010	19,721	0,046

Tab. 21: Data z fluorescenčního měření varianty Seance C2 za normálního osvětlení po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Seance C2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	147	786	639	0,813	745	173	572	0,768	164	3,793
list č. 2	162	775	613	0,791	748	184	564	0,754	179	3,330
list č. 3	105	727	622	0,856	673	126	547	0,813	155	3,690
list č. 4	114	728	614	0,843	688	134	554	0,805	168	3,333
Průměr	132,000	754,00	622,00	0,826	713,50	154,25	559,25	0,785	166,50	3,536
Směrodatná odchylka	26,944	30,930	12,028	0,029	38,613	28,547	10,996	0,028	9,950	0,240

Tab. 22: Data z fluorescenčního měření varianty Seance C2 za normálního osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Seance C2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	146	762	616	0,808	724	171	553	0,764	157	3,854
list č. 2	123	750	627	0,836	712	147	565	0,794	174	3,310
list č. 3	102	663	561	0,846	623	121	502	0,806	149	3,450
list č. 4	135	749	614	0,820	708	159	549	0,775	157	3,771
Průměr	126,50	731,00	604,50	0,828	691,75	149,50	542,25	0,785	159,25	3,596
Směrodatná odchylka	18,841	45,717	29,558	0,017	46,335	21,378	27,681	0,019	10,532	0,258

Tab. 23: Data z fluorescenčního měření varianty Seance C2 při osvětlení 900 μE po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Seance C2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	129	656	527	0,803	651	143	508	0,780	163	3,025
list č. 2	131	612	481	0,786	612	144	468	0,765	177	2,458
list č. 3	136	681	545	0,800	684	154	530	0,775	169	3,030
list č. 4	140	742	602	0,811	722	161	561	0,777	178	3,169
Průměr	134,00	672,75	538,75	0,800	667,25	150,50	516,75	0,774	171,75	2,920
Směrodatná odchylka	4,967	54,267	50,042	0,010	46,885	8,583	39,101	0,007	7,089	0,315

Tab. 24: Data z fluorescenčního měření varianty Seance C2 při osvětlení 900 μE po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Seance C2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	124	659	535	0,812	672	142	530	0,789	170	2,876
list č. 2	100	544	444	0,816	527	112	415	0,787	131	3,153
list č. 3	162	764	602	0,788	745	189	556	0,746	179	3,268
list č. 4	133	758	625	0,825	740	156	584	0,789	183	3,142
Průměr	129,75	681,25	551,50	0,810	671,00	149,75	521,25	0,778	165,75	3,110
Směrodatná odchylka	25,617	103,394	81,201	0,016	101,610	31,962	74,186	0,021	23,796	0,166

Tab. 25: Data z fluorescenčního měření varianty Seance S1 za normálního osvětlení po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Seance S1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	129	722	593	0,821	684	150	534	0,781	163	3,429
list č. 2	131	716	585	0,817	672	156	516	0,768	198	2,616
list č. 3	117	813	696	0,856	751	143	608	0,810	168	3,839
list č. 4	133	698	565	0,809	662	156	506	0,764	178	2,921
Průměr	127,50	737,25	609,75	0,826	692,25	151,25	541,00	0,781	176,75	3,202
Směrodatná odchylka	7,188	51,519	58,693	0,021	40,186	6,185	46,145	0,021	15,478	0,542

Tab. 26: Data z fluorescenčního měření varianty Seance S1 za normálního osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Seance S1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	155	787	632	0,803	756	187	569	0,753	164	3,799
list č. 2	141	804	663	0,825	772	169	603	0,781	173	3,647
list č. 3	139	746	607	0,814	710	168	542	0,763	179	3,168
list č. 4	148	843	695	0,824	804	176	628	0,781	186	3,532
Průměr	145,75	795,00	649,25	0,817	760,50	175,00	585,50	0,770	175,50	3,537
Směrodatná odchylka	7,274	40,208	38,143	0,010	39,137	8,756	37,758	0,014	9,327	0,269

Tab. 27: Data z fluorescenčního měření varianty Seance S1 při osvětlení 900 μE po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Seance S1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	136	653	517	0,792	638	156	482	0,755	185	2,530
list č. 2	128	667	539	0,808	642	149	493	0,768	180	2,706
list č. 3	133	722	589	0,816	697	151	546	0,783	183	2,945
list č. 4	119	610	491	0,805	587	136	451	0,768	166	2,675
Průměr	129,00	663,00	534,00	0,805	641,00	148,00	493,00	0,769	178,50	2,714
Směrodatná odchylka	7,439	46,210	41,585	0,010	44,952	8,524	39,556	0,011	8,583	0,172

Tab. 28: Data z fluorescenčního měření varianty Seance S1 při osvětlení 900 μE po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Seance S1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	139	663	524	0,790	652	160	492	0,755	182	2,643
list č. 2	122	609	487	0,800	586	145	441	0,753	151	3,033
list č. 3	107	705	598	0,848	662	131	531	0,802	164	3,299
list č. 4	158	746	588	0,788	729	184	545	0,748	200	2,730
Průměr	131,50	680,75	549,25	0,807	657,25	155,00	502,25	0,765	174,25	2,926
Směrodatná odchylka	21,977	58,620	52,886	0,028	58,523	22,672	46,586	0,025	21,360	0,299

Tab. 29: Data z fluorescenčního měření varianty Seance S2 za normálního osvětlení po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Seance S2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	117	787	670	0,851	735	140	595	0,810	162	3,858
list č. 2	125	794	669	0,843	739	153	586	0,793	166	3,783
list č. 3	118	733	615	0,839	677	141	536	0,792	160	3,581
list č. 4	121	696	575	0,826	641	141	500	0,780	153	3,549
Průměr	120,25	752,50	632,25	0,840	698,00	143,75	554,25	0,794	160,25	3,693
Směrodatná odchylka	3,594	46,494	46,010	0,010	47,399	6,185	44,515	0,012	5,439	0,151

Tab. 30: Data z fluorescenčního měření varianty Seance S2 za normálního osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Seance S2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	139	742	603	0,813	708	166	542	0,766	140	4,300
list č. 2	142	873	731	0,837	821	166	655	0,798	188	3,644
list č. 3	125	743	618	0,832	711	150	561	0,789	150	3,953
list č. 4	123	708	585	0,826	663	145	518	0,781	157	3,510
Průměr	132,25	766,50	634,25	0,827	725,75	156,75	569,00	0,784	158,75	3,852
Směrodatná odchylka	9,639	72,840	65,896	0,010	67,188	10,874	59,972	0,014	20,710	0,352

Tab. 31: Data z fluorescenčního měření varianty Seance S1 při osvětlení 900 μE po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Seance S2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	147	743	596	0,802	704	173	531	0,754	181	3,105
list č. 2	138	765	627	0,820	728	160	568	0,780	197	2,883
list č. 3	111	659	548	0,832	618	129	489	0,791	154	3,279
list č. 4	125	697	572	0,821	674	145	529	0,785	181	2,851
Průměr	130,25	716,00	585,75	0,819	681,00	151,75	529,25	0,778	178,25	3,030
Směrodatná odchylka	15,692	47,399	33,768	0,012	47,455	18,998	32,274	0,016	17,840	0,201

Tab. 32: Data z fluorescenčního měření varianty Seance S2 při osvětlení 900 μE po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Seance S2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	117	705	588	0,834	681	139	542	0,796	177	2,983
list č. 2	148	722	574	0,795	701	173	528	0,753	185	2,903
list č. 3	127	719	592	0,823	678	148	530	0,782	179	3,017
list č. 4	175	685	510	0,745	656	201	455	0,694	165	3,152
Průměr	141,75	707,75	566,00	0,799	679,00	165,25	513,75	0,756	176,50	3,014
Směrodatná odchylka	25,656	16,879	38,123	0,040	18,421	27,837	39,652	0,045	8,386	0,104

Tab. 33: Data z fluorescenčního měření varianty Granny C1 za normálního osvětlení po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Granny C1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	131	825	694	0,841	768	153	615	0,801	167	3,940
list č. 2	135	792	657	0,830	738	160	578	0,783	179	3,425
list č. 3	130	816	686	0,841	758	156	602	0,794	174	3,690
list č. 4	114	725	611	0,843	673	133	540	0,802	151	3,801
Průměr	127,50	789,50	662,00	0,839	734,25	150,50	583,75	0,795	167,75	3,714
Směrodatná odchylka	9,256	45,200	37,532	0,006	42,696	12,014	32,948	0,009	12,203	0,218

Tab. 34: Data z fluorescenčního měření varianty Granny C1 za normálního osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Granny C1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	122	742	620	0,836	694	148	546	0,787	153	3,850
list č. 2	140	779	639	0,820	738	166	572	0,775	172	3,529
list č. 3	134	806	672	0,834	760	156	604	0,795	170	3,741
list č. 4	126	807	681	0,844	749	149	600	0,801	158	4,108
Průměr	130,50	783,50	653,00	0,834	735,25	154,75	580,50	0,790	163,25	3,807
Směrodatná odchylka	8,062	30,556	28,460	0,010	28,930	8,302	27,049	0,011	9,215	0,241

Tab. 35: Data z fluorescenčního měření varianty Granny C1 při osvětlení 900 μE po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Granny C1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	131	711	580	0,816	676	149	527	0,780	167	3,257
list č. 2	112	671	559	0,833	637	128	509	0,799	151	3,444
list č. 3	129	787	658	0,836	739	151	588	0,796	185	3,254
list č. 4	135	767	632	0,824	730	160	570	0,781	196	2,913
Průměr	126,75	734,00	607,25	0,827	695,50	147,00	548,50	0,789	174,75	3,217
Směrodatná odchylka	10,145	52,902	45,675	0,009	47,906	13,540	36,720	0,010	19,839	0,221

Tab. 36: Data z fluorescenčního měření varianty Granny C1 při osvětlení 900 μE po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Granny C1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	118	575	457	0,795	564	129	435	0,771	153	2,758
list č. 2	133	740	607	0,820	715	154	561	0,785	176	3,205
list č. 3	125	780	655	0,840	743	148	595	0,801	190	3,105
list č. 4	138	819	681	0,832	762	163	599	0,786	184	3,451
Průměr	128,50	728,50	600,0	0,822	696,00	148,50	547,50	0,786	175,75	3,130
Směrodatná odchylka	8,813	107,296	100,140	0,020	90,093	14,387	76,913	0,012	16,215	0,287

Tab. 37: Data z fluorescenčního měření varianty Granny S1 za normálního osvětlení po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Granny S1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	150	701	551	0,786	691	150	541	0,783	157	3,465
list č. 2	156	792	636	0,803	753	185	568	0,754	189	3,190
list č. 3	135	673	538	0,799	636	151	485	0,763	162	3,154
list č. 4	136	768	632	0,823	718	157	561	0,781	160	3,800
Průměr	144,25	733,50	589,25	0,803	699,50	160,75	538,75	0,770	167,00	3,402
Směrodatná odchylka	10,404	55,764	51,970	0,015	49,359	16,460	37,615	0,014	14,810	0,299

Tab. 38: Data z fluorescenčního měření varianty Granny S1 za normálního osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Granny S1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	136	832	696	0,837	755	155	600	0,795	166	4,012
list č. 2	149	837	688	0,822	790	175	615	0,778	179	3,676
list č. 3	150	919	769	0,837	863	178	685	0,794	185	3,968
list č. 4	162	879	717	0,816	829	189	640	0,772	184	3,777
Průměr	149,25	866,75	717,50	0,828	809,25	174,250	635,00	0,785	178,50	3,858
Směrodatná odchylka	10,626	40,713	36,446	0,011	46,878	14,175	37,193	0,012	8,737	0,159

Tab. 39: Data z fluorescenčního měření varianty Granny S1 při osvětlení 900 μE po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Granny S1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	158	699	541	0,774	704	172	532	0,756	182	2,841
list č. 2	123	611	488	0,799	601	140	461	0,767	168	2,637
list č. 3	142	664	522	0,786	653	163	490	0,750	187	2,551
list č. 4	134	658	524	0,796	653	149	504	0,772	169	2,893
Průměr	139,25	658,00	518,75	0,789	652,75	156,00	496,75	0,761	176,50	2,730
Směrodatná odchylka	14,728	36,175	22,202	0,011	42,051	14,259	29,545	0,010	9,469	0,163

Tab. 40: Data z fluorescenčního měření varianty Granny S1 při osvětlení 900 μE po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Granny S1	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	148	769	621	0,808	741	167	574	0,775	194	2,964
list č. 2	132	750	618	0,824	714	156	558	0,782	179	3,190
list č. 3	151	687	536	0,780	682	172	510	0,748	169	3,065
list č. 4	144	744	600	0,806	731	165	566	0,774	182	3,088
Průměr	143,75	737,50	593,75	0,805	717,00	165,00	552,00	0,770	181,0	3,077
Směrodatná odchylka	8,342	35,313	39,601	0,018	25,859	6,683	28,752	0,015	10,296	0,093

Tab. 41: Data z fluorescenčního měření varianty Granny S2 za normálního osvětlení po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Granny S2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	162	807	645	0,799	761	186	575	0,756	152	4,309
list č. 2	133	788	655	0,831	741	156	585	0,789	167	3,719
list č. 3	126	812	686	0,845	755	147	608	0,805	162	4,012
list č. 4	142	846	704	0,832	789	169	620	0,786	180	3,700
Průměr	140,75	813,25	672,50	0,827	761,50	164,50	597,0	0,784	165,25	3,935
Směrodatná odchylka	15,607	24,157	27,307	0,020	20,158	16,941	20,640	0,020	11,644	0,288

Tab. 42: Data z fluorescenčního měření varianty Granny S2 za normálního osvětlení po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Granny S2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	127	781	654	0,837	752	152	600	0,798	164	3,762
list č. 2	143	838	695	0,829	795	172	623	0,784	162	4,173
list č. 3	119	809	690	0,853	748	145	603	0,806	156	4,186
list č. 4	147	844	697	0,826	796	167	629	0,790	192	3,396
Průměr	134,00	818,00	684,00	0,836	772,75	159,00	613,75	0,795	168,50	3,879
Směrodatná odchylka	13,216	29,017	20,216	0,012	26,323	12,623	14,408	0,010	16,031	0,378

Tab. 43: Data z fluorescenčního měření varianty Granny S2 při osvětlení 900 μE po dvaceti čtyřech hodinách od počátku měření.

Granny S2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	143	677	534	0,789	672	158	514	0,765	152	3,454
list č. 2	137	754	617	0,818	725	153	572	0,789	175	3,309
list č. 3	147	816	669	0,820	782	174	608	0,777	189	3,317
list č. 4	129	707	578	0,818	667	149	518	0,777	169	3,183
Průměr	139,00	738,50	599,50	0,811	711,50	158,50	553,00	0,777	171,25	3,316
Směrodatná odchylka	7,832	60,611	57,414	0,015	53,830	10,970	45,211	0,010	15,327	0,111

Tab. 44: Data z fluorescenčního měření varianty Granny S2 při osvětlení 900 μE po čtyřiceti osmi hodinách od počátku měření.

Granny S2	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Fm'	Fo'	Fv'	Fv'/Fm'	Fs	Rfd
list č. 1	141	786	645	0,821	753	161	592	0,786	181	3,343
list č. 2	135	796	661	0,830	756	157	599	0,792	176	3,523
list č. 3	140	807	667	0,827	770	164	606	0,787	191	3,225
list č. 4	139	794	655	0,825	771	162	609	0,790	197	3,030
Průměr	138,75	795,75	657,00	0,826	762,50	161,00	601,50	0,789	186,25	3,280
Směrodatná odchylka	2,630	8,655	9,381	0,004	9,327	2,944	7,594	0,003	9,500	0,207